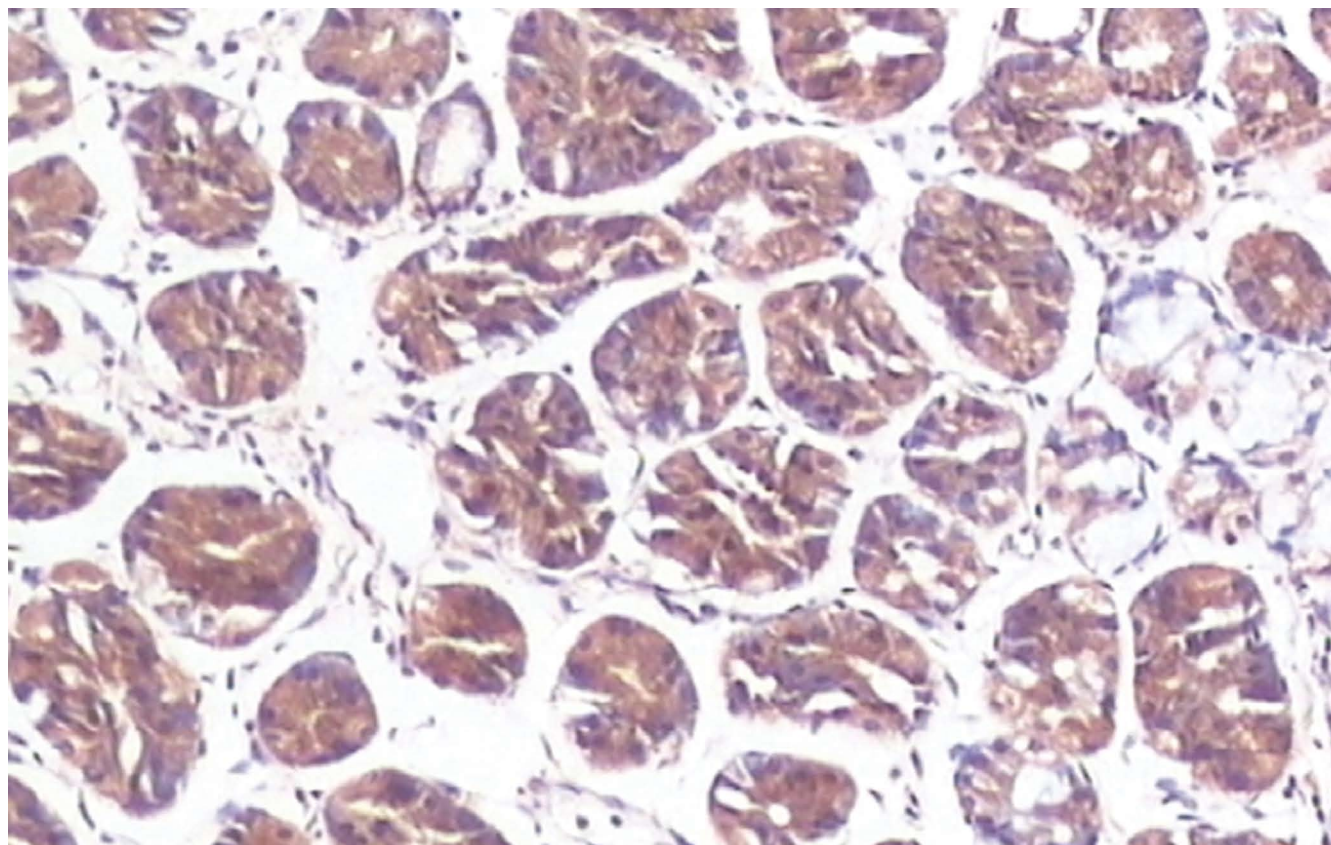


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 10 月 8 日 第 21 卷 第 28 期 (Volume 21 Number 28)



28 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由485位专家组成, 分布在30个省市, 自治区, 特别行政区。其中, 上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年10月8日 第21卷 第28期 (总第432期)

述 评	2897 肠道乳糖酶的研究进展 谭周进, 郭抗萧, 曾奥, 郭照辉, 王欢
基础研究	2902 全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎 洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平 2908 骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用 张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星
临床研究	2915 USP22、MTA1及Ki-67蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性 郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛 2922 p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制 张红梅, 张小茜, 仲华, 张娜, 李蕾, 季万胜 2929 RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义 赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东 2937 下调缺氧诱导因子-1 α 表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响 王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福 2945 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响 雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延
文献综述	2950 S-1治疗进展期胃癌的研究进展 杨健, 周炎, 陈锦飞 2957 LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用 殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英 2963 遗传性非息肉性结直肠癌 陈昌望, 珠珠, 董坚 2969 Oct4基因在消化系肿瘤中的研究进展 黎江, 文坤明, 曾庆良 2975 中医方证相应理论的研究进展 周盼盼, 王彦刚 2981 益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制 宋岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜葵
临床经验	2987 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析 戴依慧, 高青, 王锦 2994 POEM治疗贲门失迟缓症7例 刘琳, 段树全, 孟宪梅, 党彤, 徐美东 2999 肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用 盛博, 陈炜, 赵磊 3004 液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用 魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道 3008 超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例 郝芳, 秦鸣放, 李宁 3013 Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义 李晓宇, 田宇彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹 3019 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比 金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞 3024 应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估 李锋, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良 3030 脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析 叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋 3037 不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效 罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2921 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2928 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2944 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2949 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2986 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2993 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2998 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3023 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3029 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3036 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东. RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-10-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

October 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 28

EDITORIAL	2897 Advances in research of intestinal lactase <i>Tan ZJ, Guo KX, Zeng A, Guo ZH, Wang H</i>
BASIC RESEARCH	2902 All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice <i>Hong K, Zhang Y, Guo Y, Bai AP</i> 2908 Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis <i>Zhang XM, Shou ZX, Shi YP, Fan H, Tang Q, Zuo DM, Liu XX</i>
CLINICAL RESEARCH	2915 Expression of USP22, MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma <i>Zheng WF, Li YX, Chen KS, Wen HT</i> 2922 Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer <i>Zhang HM, Zhang XQ, Zhong H, Zhang N, Li L, Ji WS</i> 2929 Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer <i>Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD</i> 2937 Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 <i>Wang L, Yao M, Gu X, Shi Y, Qiu LW, Lu SL, Yao DF</i> 2945 Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus <i>Luo HZ, Chen H, Wang Y, Deng HZ, Guo ZG, Li JY</i>
REVIEW	2950 Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer <i>Yang J, Zhou Y, Chen JF</i> 2957 Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease <i>Yin XL, Lu WN, Feng LY</i> 2963 Hereditary nonpolyposis colorectal cancer <i>Chen CW, Zhu Z, Dong J</i> 2969 Role of Oct4 in gastrointestinal tumors <i>Li J, Wen KM, Zeng QL</i> 2975 Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine <i>Zhou PP, Wang YG</i> 2981 Mechanisms underlying role of probiotics in recovering <i>Helicobacter pylori</i> -associated intestinal mucosal barrier damage <i>Song Y, Cao XC, Yang YY, Jiang K</i>
CLINICAL PRACTICE	2987 Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis <i>Dai YH, Gao Q, Wang J</i> 2994 Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases <i>Liu L, Duan SQ, Meng XM, Dang T, Xu MD</i> 2999 Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinoma with cirrhosis <i>Sheng B, Chen W, Zhao L</i> 3004 Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration <i>Wei XP, Tian DG, Yu HH, Wang QH, Hu MD</i> 3008 Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases <i>Hao F, Qin MF, Li N</i> 3013 Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer <i>Li XY, Tian ZB, Shan XZ, Zhang CP, Liu XY, Xu YH, Li XH, Wu J, Zhao WJ, Li D</i> 3019 Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy <i>Jin XW, Zhang J, Zhu M, Mao GP, Ning SB, Tang J, Li YF</i> 3024 Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration <i>Li D, Liu JH, Kang CB, Chen XF, Li XB, Lin DP, Li XW, Ye B, Zhang P, Liu QL</i> 3030 Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis <i>Ye CC, Tan SY, Wang J, Li M, Zhang J, Sun P</i>

	3037 Efficacy of different durations of probiotic therapy in <i>Helicobacter pylori</i> eradication <i>Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD</i> . Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

肠道乳糖酶的研究进展

谭周进, 郭抗萧, 曾 奥, 郭照辉, 王 欢

谭周进, 郭抗萧, 王欢, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

曾奥, 郭照辉, 湖南省微生物研究院 湖南省长沙市 410009
谭周进, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药微生态学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173214

作者贡献分布: 本文综述由郭抗萧、曾奥及王欢完成; 谭周进与郭照辉审核。

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区象嘴路, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

电话: 0731-85381154

收稿日期: 2013-07-31 修回日期: 2013-08-28

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Advances in research of intestinal lactase

Zhou-Jin Tan, Kang-Xiao Guo, Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Huan Wang

Zhou-Jin Tan, Kang-Xiao Guo, Huan Wang, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Hunan Institute of Microbiology, Changsha 410009, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173214

Correspondence to: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, Xiangzui Road, Hanpu Kejiao Zone, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2013-07-31 Revised: 2013-08-28

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

Lactase is a type of disaccharidase which exists on the surface of small intestinal villi of mammals and can be generated by many beneficial intestinal bacteria. The majority of humans are deficient in lactase and approximately 2/3 of the world's population are affected by lactase deficiency. Nowadays, the research of the metabolism of lactose, lactose enzyme expression and regulation has attracted wide attention both in China and other countries. In this article, we will review recent progresses in research of intestinal lactase.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lactase; Lactase deficiency; Diarrhea; Intestinal enzyme

Tan ZJ, Guo KX, Zeng A, Guo ZH, Wang H. Advances in research of intestinal lactase. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2897-2901 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2897.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2897>

摘要

乳糖酶是存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上的一种双糖酶, 很多肠道有益菌均具有产生乳糖酶的能力。世界上大多数人群中存在乳糖酶缺乏, 影响了全世界近2/3的人口。目前有关乳糖代谢和乳糖酶活性的表达调控方面的研究, 已引起国内外学者的关注。本文将对此方面的近期研究进展进行综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乳糖酶; 乳糖酶缺乏; 腹泻; 肠道酶

核心提示: 肠道乳糖酶缺乏症主要是由于乳糖酶基因关闭, 且对于乳糖酶基因表达的调控机制尚未完全明确, 所以在基因水平上对乳糖酶进行调控, 还有待进一步研究。目前广泛关注的研究热点依然是口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收。

谭周进, 郭抗萧, 曾奥, 郭照辉, 王欢. 肠道乳糖酶的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2897-2901 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2897.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2897>

0 引言

乳糖是由葡萄糖和半乳糖构成, 这两种单糖极易被肠腔吸收, 是人体组织结构和能量的重要来源^[1,2]。乳糖被人体吸收利用的前提条件是经乳糖酶(lactase, LCT)水解。乳糖酶是存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上的一种双糖酶, 在肠黏膜呈灶块状分布, 可降解乳糖变为半乳糖和葡萄糖, 亦具有半乳糖苷的转移作用^[3-5]。事实上, 很多人由于小肠上皮细胞乳糖酶缺乏, 饮用牛奶后乳糖不能被分解吸收, 乳糖进入结

■背景资料

乳糖是由葡萄糖和半乳糖构成, 乳糖酶存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上, 可降解乳糖变为半乳糖和葡萄糖。肠道乳糖酶缺乏(lactase deficiency, LD)影响着世界2/3的人口, 对人类健康具有很大威胁。如何提高肠道乳糖酶活性和降低乳糖不耐症的发生显得尤为重要, 本文就这方面进行综述。

■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

■ 研发前沿

C/T-13910和G/A-22018变异型基因并不能预测所有人种的乳糖酶持续,有研究显示,乳糖酶活性的调节主要在转录水平,但也有很多学者提出乳糖酶活性的调节由顺式作用元件调节,所以乳糖酶基因水平的调节还处于进一步的研究中。从低温环境中分离出活性高的乳糖酶生产菌和固定化法生产低乳糖制品研究能够解决实际问题并能降低生产成本。

肠后,被肠道细菌分解,产生大量乳酸、甲酸等短链脂肪酸和氢气,造成渗透压升高,使肠腔中的水分增多,引起腹胀、肠鸣、肠绞痛直至腹泻等现象,这在医学上称为乳糖不耐症(lactose intolerance, LI)。除表现为乳糖不耐症之外,还存在乳糖代谢不良但不表现出症状的人群,通常称为乳糖吸收不良(lactose malabsorption, LM)。乳糖不耐症与乳糖吸收不良合称为乳糖酶缺乏(lactase deficiency, LD)。乳糖酶缺乏是一种广泛存在的世界性问题,影响了全世界近2/3的人口,亚洲患病率高达95%,LD对人类的健康造成很大的威胁^[6-8],尤其是青少年。因此,对肠道乳糖酶的研究就显得尤为重要。本文就肠道乳糖酶的研究进展做如下综述。

1 肠道乳糖酶的来源

由于在自然条件下乳汁实际为乳糖仅有的来源,幼仔于断奶后一生中极少可能再摄入大量乳糖,成年后肠道乳糖酶即失去存在意义,所以多数哺乳动物临近断奶时其肠道乳糖酶逐渐减少,最终完全消失。哺乳动物的乳糖酶活性随年龄增长具有典型的生理性降低^[9,10]。人体肠道乳糖酶的来源主要是靠机体自身合成、肠道内益生菌的少量合成并分泌和服用外源乳糖酶补充。自身合成的肠道乳糖酶由乳糖酶基因合成并通过-COOH端的疏水氨基酸序列连接在肠黏膜微绒毛膜表面。部分肠道菌含有乳糖酶,如双歧杆菌、乳杆菌、大肠杆菌、酵母菌和霉菌等不同来源的乳糖酶,其酶学性质相差很大^[11],已经有很多不同来源的乳糖酶基因被克隆^[12,13]。所有双歧杆菌都含有 β -半乳糖苷酶,可将乳糖降解成葡萄糖、半乳糖,且活力明显高于其他肠道菌,因此适量的补充双歧杆菌可以避免乳糖不耐症的发生^[14]。通过微生物工程和分离纯化工艺等手段把乳糖酶制成乳糖酶片,目前,克鲁维酵母制备的乳糖酶和米曲霉制备的真菌乳糖酶是国际上商品乳糖酶的主要来源^[15]。

2 肠道乳糖酶与机体营养、疾病等的相关性

乳糖酶在小肠黏膜双糖酶中成熟最晚,含量最低,最易受损,恢复也最慢,但却和人类的健康有着密切的关系^[16,17]。乳糖酶缺乏与种族、遗传、地理环境等诸多因素有关,可分为先天性乳糖酶缺乏、成人型乳糖酶缺乏和继发性乳糖酶缺乏^[18-23]。乳糖代谢障碍可引起人类一系列的疾病^[24,25]。

2.1 肠道乳糖酶与机体营养的相关性 乳糖是人乳中唯一存在的双糖以及牛奶等乳制品中存在的主要碳水化合物,全脂牛奶中约30%的热量和脱脂牛奶中60%的热量都是由乳糖提供,是婴幼儿的主要能量来源。人乳中约含7%的乳糖,牛乳中约含4.7%^[26]。乳糖在进入人体后,在小肠乳糖酶的作用下分解成葡萄糖和半乳糖,后者是构成脑及神经组织糖脂质的成分,为婴儿脑发育的必需物质。乳糖区别于其他的糖类,他是矿物质的载体,可以促进矿物质特别是钙质的吸收。再者,乳糖酶还在在人体内通过转糖苷作用生产低聚糖,这种分子量低、不粘稠的水溶性膳食纤维仅被双歧杆菌利用,如此便可调整肠生态,预防便秘和腹泻的发生^[27]。

2.2 肠道乳糖酶与疾病的相关性 在世界范围内大多数人群中,婴儿期过后,小肠黏膜乳糖酶活性会降到一个较低的水平,并且维持终生。肠道乳糖酶与疾病的相关性主要表现在乳糖不耐受。当小肠黏膜乳糖酶缺乏或酶活性受到抑制,未被吸收的乳糖滞留在肠道中,被肠道细菌发酵分解成乳酸和CO₂等气体,并使肠腔内渗透压增高,进而引起腹胀气、肠痉挛、甚至腹泻,使大量营养素尤其是钙吸收不良,称为乳糖不耐受(LI)。当LD只引起乳糖吸收障碍而无临床症状时,称为乳糖吸收不良^[3]。乳糖吸收障碍不仅伴有乳糖不耐的征兆,还伴有食欲下降,致使较少食物摄取,同时出现腹胀、腹痛、腹泻等症状,进而造成大量营养素尤其是乳钙的丢失^[28],还包括有价值的蛋白质、维生素、矿物质等^[29]。按发病机制,乳糖酶缺乏可分为3类:第1类是先天性乳糖酶缺乏。此类型极为罕见,指出生时机体乳糖酶活性几乎完全缺乏,是机体常染色体隐性基因所致。已知遗传上有缺乏乳糖酶的人,如果给这样的人以过剩的乳糖,则未消化的乳糖进入循环系统,则会引起白内障等症状。第2类是继发性乳糖酶缺乏,继发于小肠黏膜弥漫性病变。第3类是原发性乳糖酶缺乏(又称成人型乳糖酶缺乏),为乳糖酶缺乏的主要类型,是由于乳糖酶活性随年龄逐渐降低而引起,无其他疾病影响,见于3-5岁以上小儿或成人,症状出现早晚受位于第2号染色体上的一个基因控制^[30]。有研究表明,我国3-5岁、7-9岁、11-13岁儿童组中,乳糖酶缺乏和乳糖不耐受的发生率分别是38.5%、87.0%、87.0%和12.2%、32.2%、29.0%^[31]。

3 肠道乳糖酶活性的影响因素

人类的幼儿在4岁的时候通常会失去90%的乳糖消化能力, 但各人之间的差异很大. 一些人种的第2号染色体上发生基因突变, 表现能终止乳糖酶的减少性状, 所以这些人种终生能消化乳糖. 有证据表明, 乳糖酶缺乏是成人常见的存在形式, 而乳糖酶持续保持生物活性则是罕见的形式^[32,33]. 哺乳动物的乳糖酶活性随年龄增长具有典型的生理性降低. Barr等研究表明出生1 mo的健康婴儿即使接受典型的喂养方式也出现了乳糖吸收不完全, 其原因是乳糖酶基因关闭, 故多数哺乳动物成年后不再能消化乳糖. 乳糖酶活性降低程度还与种族、年龄等因素有关. 在一些成年人中, 乳糖酶却持续保持高活性. 这是因为常染色体显性突变阻止了生长过程中乳糖酶表达的退化. 这种突变主要在北欧后裔中存在^[34,35]. 有研究表明抗生素能够破坏或抑制肠道乳糖酶的活性, 研究表明 β -内酰胺类抗生素可破坏肠道乳糖酶活性致腹泻, 即药物性腹泻继发乳糖不耐受^[36]. 小肠黏膜疾病或某些全身性疾病, 如感染性腹泻、肠道手术、Ig缺乏症、急性胃肠炎、局限性回肠炎、乳糜泻、断肠综合征、克罗恩病、 β -蛋白缺乏症、广泛肠切除, 或因服用新霉素或对氨基水杨酸等药物可导致暂时性乳糖酶活性低下, 但此类变化可逆, 随着原发病的治愈, 乳糖酶的活性会恢复正常^[37].

4 肠道乳糖酶的调控技术

肠道乳糖酶缺乏症因为是基因原因导致, 目前没有根治的方法. 因此肠道乳糖酶的调控技术显得尤为重要. 肠道乳糖酶的调控技术主要有以下几类.

第一类: 积极治疗原发病, 避免使用损害乳糖酶活性的药物. 禁止滥用抗生素, 不恰当地使用抗生素能抑制正常的益生菌群繁殖, 妨碍肠道微生物对乳糖的代谢作用, 从而加重乳糖不耐受症状. 促进肠上皮细胞修复及乳糖酶活性的恢复, 如补充叶酸、锌制剂等. 此类方法主要是针对小肠黏膜弥漫性病变引起的继发性乳糖酶缺乏症.

第二类: 乳糖酶基因的调节. 乳糖酶活性下调由于断奶后根皮苷水解酶基因表达的下调引起的, 是人类普遍存在的一种肠道双糖酶缺乏症状, 关于乳糖酶活性的调节因素众说纷纭. 自2002年Enattah^[38]通过对北欧人种进行研究提出根皮苷水解酶基因上游C/T-13910和G/A-22018变异型是LD的基因标志物以来, 关于这2个单核

苷酸的研究很多. 国内学者^[39]通过研究发现乳糖酶基因C/T-13910位点可能与中国南方人群乳糖酶缺乏不相关, T-13910等位基因位点检测在中国南方人群中不能预测乳糖酶持续. 大多数研究显示, 乳糖酶mRNA的水平与乳糖酶的活性和L/S比率呈正相关, 说明乳糖酶活性的调节主要在转录水平. 但也有很多学者提出不同的观点, 有学者提出乳糖酶活性的调节由顺式作用元件调节^[40,41]. 基因治疗因其毒性潜在长期危害性和侵袭性而不能普遍被人们接受, 所以乳糖酶基因水平的调节还处于进一步的研究中.

第三类: 直接补充乳糖酶和生产低乳糖制品. 口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收是目前广泛关注的研究热点^[42]. 某些肠道微生物如乳杆菌能够产生少量乳糖酶, 通过基因工程诱变育种得到高产菌株, 使其大规模生产乳糖酶. 某些细菌、酵母菌和真菌也能合成乳糖酶. 目前, 国际市场的乳糖酶产品, 一种是乳酸克鲁维酵母制备的乳糖酶, 另一种是米曲霉制备的真菌乳糖酶. 比较成熟的是乳酸克鲁维酵母发酵的乳糖酶, 这种乳酸酵母最先是伯约尼克1889年发现的. 随着1950年发现了乳糖不耐症的病因, 1960年研制出乳糖酶, 才得以应用^[21,43,44]. 乳糖酶日摄入量不受限制, 已由FDA和JACFA等权威评审机构确认为安全物质^[45]. 上述所述乳糖酶产品最适温度均在37℃左右, 对于生产低乳糖制品的储存和运输并不利, 低温乳糖酶具有中温乳糖酶无法达到的优越性, 多数学者开始从低温环境中分离乳糖酶产生菌^[29,46-48], 通过16S rRNA序列分析可知, 多数低温乳糖酶产生菌属于节杆菌(*Arthrobacter*)和交替假单胞菌(*Pseudoalteromonas*)^[49], 随着研究的深入, 低温乳糖酶的生产成本也将大幅降低. 同时将乳糖酶固定化后生产低乳糖制品也受到了多数酶学专家的关注, 既能提高生产效率, 也能明显降低生产成本^[41].

第四类: 中医中药调节法. 采用太子参、白术、袂冬、焦山碴等, 健脾助运, 涩肠止泻, 获得较好效果. 已有研究表明某些中药复方能够治疗腹泻, 其原因是增强了乳糖酶的活性. 张晓利等^[49]通过研究白头翁复方对腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性的影响, 研究说明白头翁复方能够显著增强腹泻小鼠肠道黏膜上乳糖酶的活性, 表明白头翁复方治疗腹泻的作用机制可能与调节乳糖酶的活性有关.

■ 相关报道

从低温环境中分离乳糖酶产生菌, 通过16S rRNA序列分析可知, 多数低温乳糖酶产生菌属于节杆菌(*Arthrobacter*)和交替假单胞菌(*Pseudoalteromonas*). 中药白头翁能够增强腹泻小鼠肠道黏膜上乳糖酶的活性, 其治疗机制还有待于进一步的研究.

■创新盘点

本文通过对乳糖酶来源,与机体相关性,影响因素以及调控技术进行系统介绍和客观分析,对临床以及如何降低乳糖酶缺乏的发生具有很好的指导意义。

5 结论

牛奶是一种最接近完善的营养食品,牛奶中的主要碳水化合物是乳糖,正常情况下,这些乳糖应该在人体内的乳糖酶的作用下,水解成葡萄糖和半乳糖后吸收并进入血液。据研究发现,随着人类的生长发育,体内乳糖酶活性却呈规律性衰减,其中我国就有75%-95%^[50]。因此,如何提高人体胃肠道乳糖酶活性和降低乳糖不耐症的发生显得尤为重要。肠道乳糖酶缺乏症主要是由于乳糖酶基因关闭,且对于乳糖酶基因表达的调控机制尚未完全明确。所以在基因水平上对乳糖酶进行调控,还有待进一步研究,目前广泛关注的研究热点依然是口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收,而通过生物工程等技术手段来降低生产乳糖酶成本也将是近几年的重要研究课题。

6 参考文献

- 1 Fox MR, Yang J, Deng Y, Cong Y, Fried M, Dai N. The prevalence, clinical relevance and impact on diet of lactose intolerance in a population with lactase deficiency: a randomised, double-blind, dose response study in healthy subjects and patients with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut* 2012; 61(suppl 2): 319-321 [DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302514d.55]
- 2 Zhu Y, Zheng X, Cong Y, Chu H, Fried M, Dai N, Fox M. Bloating and distention in irritable bowel syndrome: the role of gas production and visceral sensation after lactose ingestion in a population with lactase deficiency. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1516-1525 [PMID: 23917444 DOI: 10.1038/ajg.2013.198]
- 3 Carter SL, Attel S. The diagnosis and management of patients with lactose-intolerance. *Nurse Pract* 2013; 38: 23-28 [PMID: 23778177 DOI: 10.1097/01.NPR.0000429894.03255.80]
- 4 Swagerty DL, Walling AD, Klein RM. Lactose intolerance. *Am Fam Physician* 2002; 65: 1845-1850 [PMID: 12018807]
- 5 Ruchkina IN, Fadeeva NA, Parfenov AI, Shcherbakov PL, Gubina AV, Poleva NI, Khomeriki SG, Chikunova BZ. [The role of small bowel microflora in the development of secondary lactase deficiency and the possibilities of its treatment with probiotics]. *Ter Arkh* 2013; 85: 21-26 [PMID: 23653934]
- 6 Kienast W, Haeseler K, Herterich R. Protein-losing enteropathy following the Fontan procedure in a child with intestinal lactase deficiency treated with lactose-free diet. *Cardiol Young* 2013 Feb 27: 1-3. [Epub ahead of print] [PMID: 23445879]
- 7 Basso MS, Luciano R, Ferretti F, Muraca M, Panetta F, Bracci F, Ottino S, Diamanti A. Association between celiac disease and primary lactase deficiency. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66: 1364-1365 [PMID: 23211657 DOI: 10.1038/ejcn.2012.153]
- 8 Solaymani-Mohammadi S, Singer SM. Host immunity and pathogen strain contribute to intestinal disaccharidase impairment following gut infection. *J Immunol* 2011; 187: 3769-3775 [PMID: 21873528 DOI: 10.4049/jimmunol.1100606]
- 9 Thomas M. The origins and evolution of lactase persistence. *Endocrine Abstracts* 2012; 28: S7
- 10 Itan Y, Powell A, Beaumont MA, Burger J, Thomas MG. The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Comput Biol* 2009; 5: e1000491 [PMID: 19714206 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000491]
- 11 王政, 马文丽, 郑文岭. 乳糖酶基因的克隆及生物信息学分析. *海南医学院学报* 2009; 15: 19-21
- 12 Juajun O, Nguyen TH, Maischberger T, Iqbal S, Haltrich D, Yamabhai M. Cloning, purification, and characterization of β -galactosidase from *Bacillus licheniformis* DSM 13. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; 89: 645-654 [PMID: 20852995 DOI: 10.1007/s00253-010-2862-2]
- 13 Rhimi M, Aghajari N, Jaouadi B, Juy M, Boudebouze S, Maguin E, Haser R, Bejar S. Exploring the acidotolerance of beta-galactosidase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: an attractive enzyme for lactose bioconversion. *Res Microbiol* 2009; 160: 775-784 [PMID: 19786095 DOI: 10.1016/j.resmic.2009.09.004]
- 14 李俊洁, 陈庆森. 双歧杆菌调理和改善肠道相关疾病作用的研究进展. *食品与科学* 2011; 32: 327-328
- 15 徐金龙, 玄明, 曹宇婷. 乳糖酶研究进展. *饲料与添加剂* 2011; 10: 50-51
- 16 李小芹, 周方, 李永春, 郭亚琼, 王新芳. 13C呼气试验对轮状病毒性腹泻继发乳糖不耐受的临床意义. *中华实用诊断与治疗杂志* 2011; 25: 399-400
- 17 Hutrya T, Iwańczak B. [Lactose intolerance: pathophysiology, clinical symptoms, diagnosis and treatment]. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 148-152 [PMID: 19388523]
- 18 Lewinsky RH, Jensen TG, Møller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3945-3953 [PMID: 16301215]
- 19 Babu J, Kumar S, Babu P, Prasad JH, Ghoshal UC. Frequency of lactose malabsorption among healthy southern and northern Indian populations by genetic analysis and lactose hydrogen breath and tolerance tests. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 140-146 [PMID: 19889824 DOI: 10.3945/ajcn.2009.27946]
- 20 Mattar R, Monteiro Mdo S, Silva JM, Carrilho FJ. LCT-22018G>A single nucleotide polymorphism is a better predictor of adult-type hypolactasia/lactase persistence in Japanese-Brazilians than LCT-13910>T. *Clinics (Sao Paulo)* 2010; 65: 1399 [PMID: 21340236]
- 21 Uchida N, Sakamoto O, Irie M, Abukawa D, Takeyama J, Kure S, Tsuchiya S. Two novel mutations in the lactase gene in a Japanese infant with congenital lactase deficiency. *Tohoku J Exp Med* 2012; 227: 69-72 [PMID: 22688420]
- 22 Plantinga TS, Alonso S, Izagirre N, Hervella M, Fregel R, van der Meer JW, Netea MG, de la Rúa C. Low prevalence of lactase persistence in Neolithic South-West Europe. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 778-782 [PMID: 22234158 DOI: 10.1038/ejhg.2011.254]
- 23 Sousa RM, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob K, Jotheeswaran A, Hernandez MA, Liu Z, Pichardo GR, Rodriguez JJ, Salas A, Sosa AL, Williams J, Zuniga T, Prince M. The contribution of

- chronic diseases to the prevalence of dependence among older people in Latin America, China and India: a 10/66 Dementia Research Group population-based survey. *BMC Geriatr* 2010; 10: 53 [PMID: 20691064 DOI: 10.1186/1471-2318-10-53]
- 24 Peng MS, He JD, Zhu CL, Wu SF, Jin JQ, Zhang YP. Lactase persistence may have an independent origin in Tibetan populations from Tibet, China. *J Hum Genet* 2012; 57: 394-397 [PMID: 22572735 DOI: 10.1038/jhg.2012.41]
- 25 戈萱, 戈建军. 小儿乳糖不耐受及其实验室诊断. *中国儿童保健杂志* 2008; 16: 70-71
- 26 张红艳, 刘成更, 赵文娟, 岳淑宁, 阎春娟, 林凯. 乳糖酶的酶学性质及其研究进展. *食品研究与开发* 2004; 25: 34-36
- 27 Friedrich DC, Santos SE, Ribeiro-dos-Santos ÂK, Hutz MH. Several different lactase persistence associated alleles and high diversity of the lactase gene in the admixed Brazilian population. *PLoS One* 2012; 7: e46520 [PMID: 23029545 DOI: 10.1371/journal.pone.0046520]
- 28 何伟, 黄承钰. BALB/c小鼠乳糖酶基因Lac的克隆及其cDNA探针的制备. *四川大学学报(医学版)* 2005; 36: 808-811
- 29 黄慧福. 乳糖酶的性质及其应用. *农技服务* 2010; 27: 1353-1354
- 30 孙雨, 缪东幸. 肠道乳糖酶缺乏的诊断和治疗进展. *南京部队医药* 2002; 4: 79-80
- 31 Yang Y, He M, Cui H, Bian L, Wang Z. The prevalence of lactase deficiency and lactose intolerance in Chinese children of different ages. *Chin Med J (Engl)* 2000; 113: 1129-1132 [PMID: 11776151]
- 32 陆茹, 刁志英, 徐小洋. 乳糖酶治疗婴幼儿急性腹泻继发乳糖不耐受疗效观察. *儿科药理学杂志* 2013; 19: 23-27
- 33 Järvelä I, Torniainen S, Kolho KL. Molecular genetics of human lactase deficiencies. *Ann Med* 2009; 41: 568-575 [PMID: 19639477 DOI: 10.1080/07853890903121033]
- 34 吕晓英. 乳糖不耐受研究动态. *现代预防医学* 2005; 132: 319-321
- 35 Urdal P, Sandstad O, Løberg EM, Haug KB. [Useful genetic test for lactase deficiency]. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2008; 128: 593 [PMID: 18311211]
- 36 彭海珍, 任立红. 不同年龄段婴幼儿抗生素性腹泻与乳糖不耐受的相关性研究. *中国全科医学* 2011; 14: 2999-3006
- 37 郑爱香. 小儿慢性腹泻并乳糖不耐受及其治疗对策. *医学前沿* 2012; 2: 200-201
- 38 Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet* 2002; 30: 233-237 [PMID: 11788828]
- 39 罗俊. 中国南方人群乳糖酶基因C/T-13910多态性研究. 浙江大学, 2010
- 40 Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B, Birk R. Frequency of LCT-13910C/T and LCT-22018G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene* 2013; 519: 67-70 [PMID: 23415628 DOI: 10.1016/j.gene.2013.01.049]
- 41 张敏文, 顾取良, 张博, 李荷. 乳糖酶研究进展. *微生物学杂志* 2011; 31: 81-86
- 42 贺红军, 孔保华, 孙承锋, 姜竹茂. 乳糖酶生物黏附纳米微囊的制备及黏附性评价. *食品工业* 2011; 10: 54-55
- 43 Neele AM, Einerhand AW, Dekker J, Büller HA, Freund JN, Verhave M, Grand RJ, Montgomery RK. Verification of the lactase site of rat lactase-phlorizin hydrolase by site-directed mutagenesis. *Gastroenterology* 1995; 109: 1234-1240 [PMID: 7557090]
- 44 Michela Leonardi, Pascale Gerbault, Mark G. Thomas, Joachim Burger. The evolution of lactase persistence in Europe. A synthesis of archaeological and genetic evidence. *Int Dairy J* 2012; 12: 88-97 [DOI: 10.1016/j.idairyj.2011.10.010]
- 45 Torniainen S, Freddara R, Routi T, Gijsbers C, Catassi C, Höglund P, Savilahti E, Järvelä I. Four novel mutations in the lactase gene (LCT) underlying congenital lactase deficiency (CLD). *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 8 [PMID: 19161632 DOI: 10.1186/1471-230X-9-8]
- 46 Clocksin KM, Jung DO, Madigan MT. Cold-active chemoorganotrophic bacteria from permanently ice-covered Lake Hoare, McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 3077-3083 [PMID: 17369347]
- 47 Mondino LJ, Asao M, Madigan MT. Cold-active halophilic bacteria from the ice-sealed Lake Vida, Antarctica. *Arch Microbiol* 2009; 191: 785-790 [PMID: 19756515 DOI: 10.1007/s00203-009-0503-x]
- 48 Stingl U, Cho JC, Foo W, Vergin KL, Lanoil B, Giovannoni SJ. Dilution-to-extinction culturing of psychrotolerant planktonic bacteria from permanently ice-covered lakes in the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Microb Ecol* 2008; 55: 395-405 [PMID: 17623231]
- 49 刘文玉, 史应武, 王杏芹. 低温 β -半乳糖苷酶的研究进展. *新疆农业科学* 2007; 44: 647-651
- 50 张晓利, 王迎春, 徐倩倩, 王丽叶, 霍晓青, 曹琳芝, 张永辉, 董世山. 白头翁复方对腹泻小鼠肠道粘膜乳糖酶活性的影响. *河北农业大学学报* 2010; 33: 99-102
- 51 Fang L, Ahn JK, Wodziak D, Sibley E. The human lactase persistence-associated SNP -13910*T enables in vivo functional persistence of lactase promoter-reporter transgene expression. *Hum Genet* 2012; 131: 1153-1159 [PMID: 22258180 DOI: 10.1007/s00439-012-1140-z]

■同行评价

本文选题很好, 论文叙述合理, 言简意赅, 条理清晰, 结果可信. 有一定的文献参考.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎

洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)目前具体机制尚不完全明确,有研究表明可能与血液及其他部位的免疫细胞尤其是巨噬细胞向损伤肠黏膜趋化、浸润,导致肠道巨噬细胞增多有关;维甲酸又名视黄酸是维生素A的活性衍生物,近年来发现全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)能明显减轻小鼠实验性结肠炎的炎症反应,但具体机制尚不完全明确。有研究表明视黄酸能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用,但维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对IBD起治疗作用目前鲜有人进行研究。

洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科江西省南昌市 330006

洪凯, 南昌大学医学院消化科在读研究生, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070310, 81270472

作者贡献分布: 本课题由白爱平与洪凯设计; 研究操作过程由洪凯、张翼及郭媛完成; 论文写作由洪凯、郭媛及白爱平完成。

通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。 baiap@163.com

收稿日期: 2013-06-11 修回日期: 2013-07-10

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice

Kai Hong, Yi Zhang, Yuan Guo, Ai-Ping Bai

Kai Hong, Yi Zhang, Yuan Guo, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070310 and 81270472

Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com

Received: 2013-06-11 Revised: 2013-07-10

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of all-trans retinoic acid (ATRA) on dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice.

METHODS: Mice were randomly divided into four groups: a normal control group, a DSS group, an ATRA group, and a LE135 group. Except the normal control group, the other groups were fed 3%DSS (w/v) solution from days 1 to 8 to induce colitis. The DSS group and ATRA group were intraperitoneally injected with ATRA 0.5 mg/d and LE135 0.1 mg/d from day 3, respectively. Disease activity index (DAI) was recorded daily. The expression of CD68, NF- κ B p65, MPO activity, and TNF level in the colon of mice of each group were measured.

RESULTS: DAI was significantly lower in the

ATRA group than in the DSS and LE135 groups (both $P < 0.05$). The histological score and MPO activity in colonic tissue in the ATRA group were significantly lower than those in the DSS and LE135 groups (histological score: 7.63 ± 1.19 vs 10.13 ± 1.36 , 10.38 ± 1.30 , both $P < 0.05$; MPO activity: 7.88 ± 0.68 vs 11.36 ± 0.96 , 12.65 ± 0.77 , both $P < 0.05$), but were higher than those in the control group (7.63 ± 1.19 vs 0.25 ± 0.463 , $P < 0.05$; 7.88 ± 0.68 vs 3.52 ± 0.58 , $P < 0.05$). The levels of TNF in colonic tissue were significantly lower in the ATRA group than in the DSS and LE135 groups (178.63 ± 39.37 vs 316.67 ± 43.68 , 362.45 ± 62.75 , both $P < 0.05$). The numbers of CD68 positive cells and NF- κ B positive cells in lamina propria in the ATRA group were significantly lower than those in the DSS and LE135 groups (all $P < 0.05$), but higher than those in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: ATRA protects against DSS-induced colitis in mice possibly by inhibiting immune cell activation in the lamina propria and infiltration of macrophage into colon tissue.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Retinoic acid; IBD; Macrophages; CD68

Hong K, Zhang Y, Guo Y, Bai AP. All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2902-2907 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2902.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2902>

摘要

目的: 探讨全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)结肠炎治疗作用的机制。

方法: 将小鼠随机分成4组: 正常对照组、DSS组、DSS+ATRA组和DSS+LE135组。建立小鼠DSS结肠炎的急性模型,从小鼠饮用DSS第3天开始, DSS+ATRA组、DSS+LE135组分别给予ATRA 0.5 mg/d、LE135 0.1 mg/d腹腔注射至实验结束。每天观察各组小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI),第8天颈椎脱

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

白处死小鼠取肠组织匀浆检测各组小鼠炎症肠段中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的含量, ELISA检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的含量, 免疫组织化学测定小鼠结肠CD68和核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B) P65的表达。

结果: (1)DAI评分: DSS+ATRA组小鼠的DAI评分为 4.63 ± 2.20 , 与DSS组、DSS+LE135组相比评分明显较低($P < 0.05$); 对照组小鼠的DAI评分均为0; (2)组织学评分: DSS+ATRA组小鼠的组织学评分为 7.63 ± 1.19 , 与DSS组(10.13 ± 1.36)、DSS+LE135组(10.38 ± 1.30)相比得分明显降低($P < 0.05$), 但明显高于正常对照组(0.25 ± 0.463); (3)MPO活性: DSS+ATRA组小鼠的MPO活性为 7.88 ± 0.68 , 与空白对照(3.52 ± 0.58)、DSS组(11.36 ± 0.96)、DSS+LE135组(12.65 ± 0.77)相比均有明显差异($P < 0.05$); (4)组织匀浆TNF含量: DSS+ATRA组(178.63 ± 39.37), 明显低于DSS组(316.67 ± 43.68)、DSS+LE135组(362.45 ± 62.75)这2组; (5)结肠组织CD68的表达: DSS+ATRA组肠黏膜固有层CD68阳性细胞数明显低于DSS组、DSS+LE135组($P < 0.05$), 与对照组小鼠的CD68表达量相比明显增高($P < 0.05$); (6)结肠组织NF- κ B的表达: DSS+ATRA组肠黏膜固有层NF- κ B阳性细胞数明显低于DSS组、DSS+LE135组($P < 0.05$), 与对照组NF- κ B的表达量相比增高($P < 0.05$)。

结论: ATRA对DSS诱导的小鼠结肠炎具有治疗作用, 机制为抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维甲酸; 视黄酸; 炎症性肠病; 巨噬细胞; CD68

核心提示: 全反式维甲酸(all-trans retinoic acid)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium)诱导的小鼠结肠炎具有治疗作用, 机制为抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润。

洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平. 全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎. 世界华人消化杂志. 2013; 21(28): 2902-2907
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2902.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2902>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主

要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是一组慢性肠道炎症性疾病, 目前其具体机制尚不完全明确^[1], 有研究表明IBD患者肠道上皮细胞受损, 肠腔内细菌分泌的LPS等向肠黏膜固有层移位, LPS激活固有层免疫细胞, 这些免疫细胞释放炎症因子和趋化因子, 如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-12、核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)等, 诱导血液及其他部位的免疫细胞尤其是巨噬细胞向损伤肠黏膜趋化、浸润, 导致肠道巨噬细胞增多^[2]; 维甲酸(retinoic acid, RA)又名视黄酸是维生素A的活性衍生物^[3], 是脂溶性、小分子量信号分子, 通过与其细胞内的受体 α (retinoic acid receptor α , RAR α)结合发挥生物学功能^[4]. 在体内的生理活性代谢产物主要包括全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)、9-顺式维甲酸和13-顺式维甲酸, 在调节生物各种进程如细胞分化、凋亡^[5]、胚胎发育、再生和视力发育^[6]中发挥重要作用. 近年来有研究表明, 全反式维甲酸能明显减轻小鼠实验性结肠炎的炎症反应^[7], 但具体机制尚不完全明确. 有研究表明视黄酸能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用, 但维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对炎症性肠病起治疗作用目前鲜有人研究。

1 材料和方法

1.1 材料 葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)购自美国MP公司, 兔抗小鼠NF- κ B p65购自北京中杉金桥生物有限公司; anti mouse-CD68 antibody for IHC-P购自美国Abcam公司; 全反式维甲酸购自美国Sigma公司; LE135购自美国Santa cruz公司; 二步法免疫组织化学检测试剂盒(PV-9001)购自北京中山生物有限公司; DAB显色增强剂购自北京中山生物有限公司; 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)检测试剂盒购自南京建成生物工程有限公司; 小鼠TNF ELISA试剂盒购自上海森雄生物工程有限公司; DMSO购自Amresco公司。

1.2 方法

1.2.1 急性DSS结肠炎的诱导: 6-8周龄的♀Balb/c小鼠, 体质量18-22 g, 分为正常对照组、DSS组、DSS+ATRA组、DSS+LE135组, 每组8只, 按Cooper等^[8]的方法建立小鼠急性DSS

■ 研发前沿

已有大量的研究表明Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡是维持肠道免疫稳态的重要因素, 这可能是导致人类IBD的原因之一. 近年来研究表明全反式维甲酸可能是调控二者平衡关系的重要因素, 通过调节Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡继而影响IBD的进程, 达到治疗的目的。

■相关报道

白爱平等的研究发现全反式维甲酸能通过调节Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡继而影响IBD的进程,达到治疗的目的.

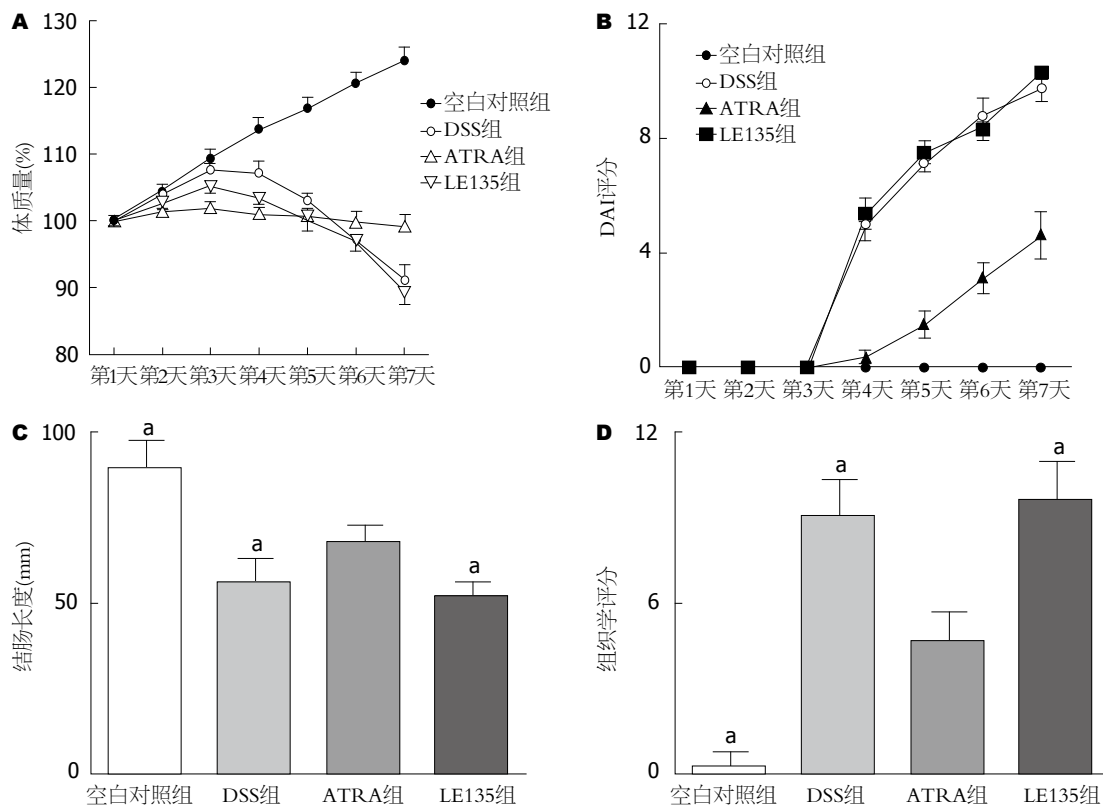


图1 全反式维甲酸对DSS诱导的结肠炎的作用. A: 体质量变化; B: DAI评分; C: 结肠长度, $^aP<0.05$ 与其他各组均有差异; D: 组织学评分, $^bP<0.05$ vs ATAR组. DSS: 葡聚糖硫酸钠; ATAP: 全反式维甲酸.

结肠炎模型. 自实验开始第1-7天DSS组、DSS+ATRA组、DSS+LE135组小鼠喂含3%DSS的蒸馏水; 实验第3天开始给予DSS+ATRA组和DSS+LE135组分别向腹腔注射配好的ATRA 0.5 mL(浓度为1 mg/mL, 溶于DMSO中加生理盐水稀释)和LE135 0.5 mL(浓度为0.2 mg/mL, 溶于DMSO中加生理盐水稀释)直至第8天处死小鼠; 对照组小鼠喂蒸馏水, 实验第8天处死小鼠.

1.2.2 结肠炎疾病活动指数(disease activity index, DAI)的评估: 每天观察并纪录小鼠的体质量变化、大便性状和大便出血(隐血或血便)等情况, 按Murano等^[9]的评分方法, 将体质量下降、大便性状、大便出血等情况的评分相加, 计算每只小鼠的疾病活动指数, 根据评估结肠炎症的严重程度.

1.2.3 组织学评分: 取距肛门5-6 cm处结肠行HE染色, 按Dieleman等^[10]的评分方法, 用炎症的严重程度、病变侵及的深度、隐窝的破坏与病变范围等评分相加, 评估结肠炎的严重程度.

1.2.4 结肠组织MPO活性测定: 按南京建成生物工程有限公司试剂盒说明进行操作.

1.2.5 结肠组织细胞因子TNF- α 的检测: 在距肛门3 cm处取0.1-0.2 cm的结肠组织块, 称质量后

匀浆, 取上清, 按试剂盒说明进行操作, 检测结肠组织中TNF- α 的含量.

1.2.6 免疫组织化学法检测结肠黏膜NF- κ B p65及CD68的表达: 在距肛门约2 cm处取0.5 cm \times 0.5 cm大小的结肠组织块, 4%甲醛溶液固定、石蜡包埋、切片. 山羊血清封闭后, 加抗NF- κ B p65抗体或抗CD68抗体4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 加二抗, DAB显色, 显微镜下观察. 细胞质、细胞核都出现棕褐色颗粒的细胞为NF- κ B p65阳性细胞, 细胞质出现棕褐色颗粒的细胞为CD68阳性细胞, 在40倍高倍镜下计数100个细胞, 其中阳性细胞数作为NF- κ B p65及CD68计数值.

统计学处理 所有的数据均以mean \pm SD形式表示. 计数、计量资料的统计分析均经SPSS18.0处理, 符合正态分布计量资料的比较采用方差分析; 不符合的采用秩和检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 小鼠体质量的变化 如图1A所示, DSS组和DSS+LE135组小鼠在饮用DSS水的第3天出现毛发缺少光泽、身体蜷缩、懒动、进食减少等的情况, 第4天开始体质量出现不同程度的下降.

表 1 各组小鼠MPO活性变化 ($n = 7$)

分组	MPO活性(U/g)
空白对照组	3.52 ± 0.58^a
DSS组	11.36 ± 0.96^a
ATRA组	7.88 ± 0.68
LE135组	12.65 ± 0.77^a

^a $P < 0.05$ vs ATRA组. MPO: 髓过氧化物酶; ATAP: 全反式维甲酸.表 2 各组小鼠TNF- α 活性 ($n = 6$)

分组	TNF- α 活性(pg/g)
空白对照组	31.20 ± 4.5^a
DSS组	316.67 ± 43.68^a
ATRA组	178.63 ± 39.37
LE135组	362.45 ± 62.75^a

^a $P < 0.05$ vs ATRA组. TNF- α : 肿瘤坏死因子 α .表 3 各组小鼠结肠NF- κ B p65的表达情况 ($n = 8$)

分组	NF- κ B p65阳性细胞数
空白对照组	6.38 ± 1.506^{ac}
DSS组	51.00 ± 4.175^{ac}
ATRA组	36.63 ± 2.669^c
LE135组	53.38 ± 3.739^a

^a $P < 0.05$ vs ATRA组; ^c $P < 0.05$ vs LE135组. NF- κ B: 核因子 κ B.表 4 各组小鼠结肠CD68的表达情况 ($n = 8$)

分组	CD68阳性细胞数
空白对照组	4.50 ± 1.20^{ac}
DSS组	32.00 ± 3.16^{ac}
ATRA组	20.63 ± 2.77^c
LE135组	36.00 ± 2.62^a

^a $P < 0.05$ vs RA组; ^c $P < 0.05$ vs LE135组.

DSS+ATRA下降幅度较DSS组和DSS+LE135组要小并有统计学意义($P < 0.05$). 对照组小鼠的体重呈持续性的增长.

2.2 小鼠结肠炎DAI评分 DSS+ATRA组出现腹泻、便血等结肠炎症状DSS和DSS+LE135组轻, 症状出现时间也较晚. 自实验第4天开始, DSS+ATRA的DAI评分明显低于DSS和DSS+LE135组($P < 0.05$). 对照组小鼠每天DAI评分均为0(图1B).

2.3 各组小鼠结肠长度变化 所有饮用DSS溶液的小鼠均出现大肠不同程度的缩短, DSS组和DSS+LE135组缩短程度最大, DSS+ATRA组介于DSS组和正常对照组之间, 结肠长度明显比DSS组要长($P < 0.05$)(图1C).

2.4 小鼠DSS结肠炎的结肠组织学变化 各组小鼠组织学评分如图1D所示, 3个实验组的组织学评分明显高于空白对照组, DSS+ATRA组的组织学评分明显低于DSS组和DSS+LE135组($P < 0.05$).

2.5 各组结肠黏膜髓MPO活性 MPO主要还是存在于炎症细胞中, 以中性粒细胞的细胞质中最为多见, 他的活性反映了结肠组织中炎症细胞的浸润程度. DSS组和DSS+LE135组小鼠结肠组织的MPO活性较正常对照组小鼠明显增高($P < 0.05$), 给予ATRA干预后MPO活性明显比DSS组和DSS+LE135组要低($P < 0.05$)(表1).

2.6 各组小鼠结肠组织中TNF- α 的表达 饮用了

7 d DSS后, DSS组和DSS+LE135组TNF- α 表达较正常组明显增高($P < 0.05$), 给予ATRA干预后TNF- α 表达明显比DSS组和DSS+LE135组要低, 具有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.7 免疫组织化学检测结肠组织NF- κ B p65和CD68的表达 正常对照组小鼠黏膜层中、少数隐窝底部上皮细胞和少量的固有层单核细胞为P65阳性细胞, 且胞核着色较浅. DSS组的黏膜层中, 残存的腺体细胞均为P65阳性细胞, 黏膜层和黏膜下层有大量的炎症细胞胞核P65染色阳性. DSS+LE135组P65表达情况和DSS相似, DSS+ATRA组P65表达较DSS组相比明显下降, 具有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

正常对照组小鼠少量的固有层单核细胞为CD68阳性细胞, 胞浆着色较浅. DSS组固有层有大量CD68染色阳性细胞, 较正常对照组明显增加($P < 0.05$). DSS+LE135组CD68的表达情况比DSS组要高($P < 0.05$), DSS+ATRA组CD68表达较DSS组相比明显下降, 具有明显的统计学意义($P < 0.05$)(表4).

3 讨论

肠黏膜巨噬细胞与其他部位的巨噬细胞一样起源于骨髓的造血干细胞, 大部分在正常肠黏膜定居的巨噬细胞主要位于上皮下的黏膜固有层和集合淋巴小结^[11]. 巨噬细胞表面有许多特异性的单克隆抗体识别标志物: CD68^[12,13]、

■创新盘点

维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对炎症性肠病起治疗作用目前鲜有人研究.

■应用要点

本研究发现ATRA能通过抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润而对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠结肠炎起治疗作用, 有待进一步证实是否也能通过这样一个机制对人体炎症性肠病起治疗作用, 是否还有其他能抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润的药物也能通过这个途径对炎症性肠病起治疗作用。

CD14^[14]、巨噬细胞清除受体^[15]、巨噬细胞甘露醇受体^[16]、天然耐受相关巨噬细胞蛋白^[17,18]、F4/80^[19]、M-CSF受体^[20]、巨噬细胞基因-1^[21]、单核细胞特异性酯酶^[22]等。巨噬细胞在机体固有免疫、适应性免疫、炎症反应、组织修复中起关键作用, 巨噬细胞可产生和分泌多种生物活性物质, 如IL-1、IL-3、TNF- α 等^[23], 大量研究表明在炎症性肠病中巨噬细胞处于一种高表达状态^[24,25], 其产生的炎症因子TNF- α 也明显增多, CD68作为巨噬细胞表面特异性标记物在炎症性肠病中也呈高表达状态。本实验中我们利用免疫组织化学法检测小鼠结肠组织中CD68的表达情况, 在正常对照组小鼠结肠组织黏膜固有层仅有少量的CD68表达, DSS结肠炎肠黏膜有大量的CD68表达, DSS+ATRA组CD68的表达明显减少, 而DSS+LE135组CD68的表达较DSS都有明显的增高。

TNF是一种由巨噬细胞产生的有广泛生物学活性的细胞因子^[26], TNF- α 是一种重要的炎症递质, 在启动和维持肠组织炎症中起着非常重要的作用^[27]。本实验中, 我们利用ELISA学法检测小鼠结肠组织TNF- α 的表达情况, 在正常对照组小鼠结肠组织TNF- α 含量较少, 而DSS小鼠结肠组织中TNF- α 含量明显增高。在小鼠腹腔注射ATRA后, 结肠损伤程度明显减轻, TNF- α 含量较DSS组明显减少。

IBD患者肠黏膜组织中NF- κ B的表达量明显上调^[28,29], NF- κ B在肠道主要定位于黏膜固有层单核细胞及巨噬细胞内, 黏膜下表皮细胞及内皮细胞中亦可见NF- κ B的表达。NF- κ B通过对细胞因子、黏附分子、趋化因子及其他炎性递质的调控在IBD炎症反应中起关键作用, 目前发现这些与炎症性肠病密切相关的细胞基因启动子或增强子部位均有 κ B的位点, NF- κ B在核内与 κ B结合促进多种炎性细胞因子如IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-8等的基因转录^[30], 已有大量的研究表明IBD中NF- κ B表达上调的同时还伴有IL-1、TNF- α 等表达的上调, 如前所述IL-1和TNF- α 可促进NF- κ B表达进一步增加, 产生级联反应, 使炎症进一步加重^[30]。本实验中, 我们利用免疫组织化学法检测小鼠结肠组织NF- κ B的活化情况, 在正常对照组小鼠结肠组织黏膜中仅有少量的肠上皮细胞和固有层单核细胞(LPMC)核表达NF- κ B p65, DSS诱导小鼠结肠炎受损结肠组织中残存的腺体上皮细胞可见大量p65阳性细胞, LPMC高表达激活的NF- κ B。在小鼠腹腔注射

ATRA后, 结肠损伤程度明显减轻, 黏膜层炎性细胞中p65阳性细胞数较DSS组的表达明显减少。

目前对维甲酸的研究相当的广泛, 过去的研究发现他对恶性肿瘤、肾病、肝脏疾病、肺气肿、动脉粥样硬化、炎症性肠病等疾病均有治疗的作用, 但其具体的机制尚不完全明确, 有研究表明他能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用, 本实验通过检测巨噬细胞的表面特异性标记物CD68观察到维甲酸能抑制巨噬细胞向肠道浸润, 从而抑制炎症性肠病的进展。

4 参考文献

- 1 Thia KT, Loftus EV, Sandborn WJ, Yang SK. An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3167-3182 [PMID: 19086963 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02158.x]
- 2 Munitz A, Cole ET, Beichler A, Groschwitz K, Ahrens R, Steinbrecher K, Willson T, Han X, Denson L, Rothenberg ME, Hogan SP. Paired immunoglobulin-like receptor B (PIR-B) negatively regulates macrophage activation in experimental colitis. *Gastroenterology* 2010; 139: 530-541 [PMID: 20398663 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.006]
- 3 D'Ambrosio DN, Clugston RD, Blazer WS. Vitamin A metabolism: an update. *Nutrients* 2011; 3: 63-103 [PMID: 21350678 DOI: 10.3390/nu3010063]
- 4 Kasimanickam VR, Kasimanickam RK. Retinoic acid signaling biomarkers after experimental with retinoic acid and retinoic acid receptor alpha antagonist (Ro 41-5253) in canine testis: an in vitro organ culture study. *Theriogenology* 2013; 79: 10-16 [PMID: 23102850 DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.001]
- 5 Spano A, Barni S, Sciola L. PMA withdrawal in PMA-treated monocytic THP-1 cells and subsequent retinoic acid stimulation, modulate induction of apoptosis and appearance of dendritic cells. *Cell Prolif* 2013; 46: 328-347 [PMID: 23692091 DOI: 10.1111/cpr.12030]
- 6 Luo T, Sakai Y, Wagner E, Dräger UC. Retinoids, eye development, and maturation of visual function. *J Neurobiol* 2006; 66: 677-686 [PMID: 16688765 DOI: 10.1002/neu.20239]
- 7 Bai A, Lu N, Zeng H, Li Z, Zhou X, Chen J, Liu P, Peng Z, Guo Y. All-trans retinoic acid ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis by shifting Th1 to Th2 profile. *J Interferon Cytokine Res* 2010; 30: 399-406 [PMID: 20187766 DOI: 10.1089/jir.2009.0028]
- 8 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69: 238-249 [PMID: 8350599]
- 9 Murano M, Maemura K, Hirata I, Toshina K, Nishikawa T, Hamamoto N, Sasaki S, Saitoh O, Katsu K. Therapeutic effect of intracolonic administered nuclear factor kappa B (p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2000; 120: 51-58

- [PMID: 10759763]
- 10 Dieleman LA, Ridwan BU, Tennyson GS, Beagley KW, Bucy RP, Elson CO. Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1643-1652 [PMID: 7958674]
 - 11 Fonseca J, Martins dos Santos J, Oliveira P, Laranjeira N, Castelo Branco NA. Noise-induced duodenal lesions: a light and electron microscopy study of the lesions of the rat duodenal mucosa exposed to low frequency noise. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 72-77 [PMID: 22104641 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.002]
 - 12 Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood* 1993; 81: 1607-1613 [PMID: 7680921]
 - 13 Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, Gordon S, Simmons DL. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J Biol Chem* 1993; 268: 9661-9666 [PMID: 8486654]
 - 14 Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431-1433 [PMID: 1698311 DOI: 10.1126/science.1698311]
 - 15 Krieger M, Herz J. Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 601-637 [PMID: 7979249 DOI: 10.1146/annurev.bi.63.070194.003125]
 - 16 Mokoena T, Gordon S. Human macrophage activation. Modulation of mannosyl, fucosyl receptor activity in vitro by lymphokines, gamma and alpha interferons, and dexamethasone. *J Clin Invest* 1985; 75: 624-631 [PMID: 2579101 DOI: 10.1172/JCI111740]
 - 17 Chen SL, Xu MY, Ji XS, Yu GC. Cloning and characterisation of natural resistance associated macrophage protein (Nramp) cDNA from red sea bream (*Pagrus major*). *Fish Shellfish Immunol* 2004; 17: 305-313 [PMID: 15312657 DOI: 10.1016/j.fsi.2004.04.003]
 - 18 Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg. *Cell* 1993; 73: 469-485 [PMID: 8490962 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90135-D]
 - 19 Lin HH, Stacey M, Stein-Streilein J, Gordon S. F4/80: the macrophage-specific adhesion-PCR and its role in immunoregulation. *Adv Exp Med Biol* 2010; 706: 149-156 [PMID: 21618834 DOI: 10.1007/978-1-4419-7913-1_13]
 - 20 Zhang DE, Hetherington CJ, Chen HM, Tenen DG. The macrophage transcription factor PU.1 directs tissue-specific expression of the macrophage colony-stimulating factor receptor. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 373-381 [PMID: 8264604 DOI: 10.1128/MCB.14.1.373]
 - 21 Spilsbury K, O'Mara MA, Wu WM, Rowe PB, Symonds G, Takayama Y. Isolation of a novel macrophage-specific gene by differential cDNA analysis. *Blood* 1995; 85: 1620-1629 [PMID: 7888681]
 - 22 Zschunke F, Salmassi A, Kreipe H, Buck F, Parwaresch MR, Radzun HJ. cDNA cloning and characterization of human monocyte/macrophage serine esterase-1. *Blood* 1991; 78: 506-512 [PMID: 2070086]
 - 23 Hamilton JA. Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrophages--some controversies. *Immunol Today* 1993; 14: 18-24 [PMID: 8442857 DOI: 10.1016/0167-5699(93)90319-G]
 - 24 Allison MC, Cornwall S, Poulter LW, Dhillon AP, Pounder RE. Macrophage heterogeneity in normal colonic mucosa and in inflammatory bowel disease. *Gut* 1988; 29: 1531-1538 [PMID: 3209109 DOI: 10.1136/gut.29.11.1531]
 - 25 Mahida YR, Patel S, Gionchetti P, Vaux D, Jewell DP. Macrophage subpopulations in lamina propria of normal and inflamed colon and terminal ileum. *Gut* 1989; 30: 826-834 [PMID: 2753407 DOI: 10.1136/gut.30.6.826]
 - 26 Kapadia S, Lee J, Torre-Amione G, Birdsall HH, Ma TS, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest* 1995; 96: 1042-1052 [PMID: 7635940 DOI: 10.1172/JCI118090]
 - 27 Blam ME, Stein RB, Lichtenstein GR. Integrating anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease: current and future perspectives. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1977-1997 [PMID: 11467623 DOI: 10.1016/S0002-9270(01)02494-7]
 - 28 Atreya I, Atreya R, Neurath MF. NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2008; 263: 591-596 [PMID: 18479258 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.01953.x]
 - 29 Thiele K, Bierhaus A, Autschbach F, Hofmann M, Stremmel W, Thiele H, Ziegler R, Nawroth PP. Cell specific effects of glucocorticoid treatment on the NF-kappaBp65/IkappaBalpha system in patients with Crohn's disease. *Gut* 1999; 45: 693-704 [PMID: 10517905 DOI: 10.1136/gut.45.5.693]
 - 30 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11 [PMID: 11134171 DOI: 10.1172/JCI11830]

同行评价

本文探讨ATRA对DSS诱导的小鼠结肠炎的治疗作用机制, 设计合理, 具有可读性和科学性, 研究结果具有一定的学术意义和参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用

张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 被世界卫生组织列为难治性疾病, 寻求新的治疗方法成为当务之急。骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 具有很强的分化和免疫调节作用, 有望成为治疗 UC 新方法。

张夏梦, 辽宁医学院研究生学院 辽宁省锦州市 121001
寿折星, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022
石月萍, 辽宁医学院附属第一医院中医科 辽宁省锦州市 121001
张夏梦, 2011级辽宁医学院在读硕士研究生, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81102690

作者贡献分布: 此课题由寿折星与张夏梦设计; 实验过程由张夏梦、左冬梅及刘星星操作完成; 石月萍、范恒及唐庆指导; 试剂由寿折星提供; 数据分析由张夏梦完成; 本论文写作由张夏梦与寿折星完成。

通讯作者: 寿折星, 讲师, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科, 36747601@qq.com

电话: 027-85726395 传真: 027-85726395

收稿日期: 2013-08-02 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis

Xia-Meng Zhang, Zhe-Xing Shou, Yue-Ping Shi, Heng Fan, Qing Tang, Dong-Mei Zuo, Xing-Xing Liu

Xia-Meng Zhang, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China

Zhe-Xing Shou, Heng Fan, Qing Tang, Dong-Mei Zuo, Xing-Xing Liu, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Yue-Ping Shi, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81102690

Correspondence to: Zhe-Xing Shou, Lecturer, Attending Physician, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Street, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 36747601@qq.com

Received: 2013-08-02 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate whether bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) can repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis (UC).

METHODS: Monocytes were purified from bone marrow, amplified and identified as MSCs *in*

vitro. Thirty female Wistar rats were randomly and equally divided into three groups: a normal control, a model group and a MSC group. Colitis was induced with trinitro-benzene-sulfonic acid in rats of the model and MSC groups. Rats of the MSC group were injected with 1 mL of MSC suspension via the tail vein, while the rats of the normal control group and model group were injected with equal volume of normal saline. After two weeks, colon tissue samples were analyzed for histopathology, and serial sections of the colon tissue were made for determining the distribution of Y chromosome and CD34 double positive cells. The protein expression of CD34 was detected by immunohistochemistry. The mRNA expression of CD34 was determined by RT-PCR. The contents of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in colon tissue were determined by ELISA.

RESULTS: Y chromosome and CD34 double positive cells could be seen in colon tissue of rats injected with MSCs. Compared to the normal control group, the expression of CD34 and IL-6 was increased (1.629 ± 0.067 vs 1.000 ± 0.113 , $P < 0.05$; $238.304 \text{ pg/mL} \pm 0.019 \text{ pg/mL}$ vs $81.439 \text{ pg/mL} \pm 0.120 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$) and the expression of IL-10 was decreased ($87.531 \text{ pg/mL} \pm 0.101 \text{ pg/mL}$ vs $289.413 \text{ pg/mL} \pm 0.039 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$) in the model group. Compared to the model group, the expression of CD34 and IL-10 was increased (2.502 ± 0.189 vs 1.629 ± 0.067 , $P < 0.05$; $158.185 \text{ pg/mL} \pm 0.033 \text{ pg/mL}$ vs $87.531 \text{ pg/mL} \pm 0.115 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$) and the expression of IL-6 was decreased ($160.95 \text{ pg/mL} \pm 0.116 \text{ pg/mL}$ vs $238.304 \text{ pg/mL} \pm 0.109 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$) in the MSC group.

CONCLUSION: MSCs may exert a therapeutic effect on colitis by differentiating into vascular cell endothelial cells and inhibiting inflammation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Ulcerative colitis; Repair; Vascular endothelium; Inflammation

■同行评议者

缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

Zhang XM, Shou ZX, Shi YP, Fan H, Tang Q, Zuo DM, Liu XX. Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2908-2914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2908.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2908>

摘要

目的: 探讨骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是否具有修复溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠结肠血管内皮的潜能及其对UC大鼠的治疗作用。

方法: 从骨髓中提纯单核细胞, 体外扩增、鉴定为MSCs。将30只♀大鼠随机分为正常组、模型组、MSCs组, 每组10只。模型组和MSCs组用三硝基苯磺酸/乙醇复合法局部灌肠法建立大鼠UC模型; 24 h后, 正常组和模型组经尾静脉输入1 mL生理盐水; MSCs组经尾静脉输入1 mL MSCs悬液。2 wk后留取结肠组织标本, 进行病理学观察; 结肠组织连续切片, 采用荧光原位杂交法结合免疫荧光染色, 观察移植组大鼠结肠组织Y染色体和CD34双阳性细胞的分布情况; 免疫组织化学法检测结肠组织CD34蛋白的表达; RT-PCR技术检测CD34 mRNA的表达; ELISA检测结肠组织中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-10含量。

结果: 连续切片可见MSCs组结肠组织可见Y染色体和CD34双阳性细胞。与正常组比较, 模型组结肠组织中CD34的表达增高(1.629 ± 0.067 vs 1.000 ± 0.113 , $P < 0.05$), IL-6的表达增高($238.304 \text{ pg/mL} \pm 0.019 \text{ pg/mL}$ vs $81.439 \text{ pg/mL} \pm 0.120 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$), IL-10的表达降低($87.531 \text{ pg/mL} \pm 0.101 \text{ pg/mL}$ vs $289.413 \text{ pg/mL} \pm 0.039 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$); 与模型组比较, MSCs组结肠组织CD34的表达增高(2.502 ± 0.189 vs 1.629 ± 0.067 , $P < 0.05$); IL-6的表达降低($160.95 \text{ pg/mL} \pm 0.116 \text{ pg/mL}$ vs $238.304 \text{ pg/mL} \pm 0.109 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$), IL-10的表达增高($158.185 \text{ pg/mL} \pm 0.033 \text{ pg/mL}$ vs $87.531 \text{ pg/mL} \pm 0.115 \text{ pg/mL}$, $P < 0.01$)。

结论: MSCs可向结肠血管内皮细胞分化从而促进血管生成, 同时能抑制肠道炎症, 有效地促进UC大鼠结肠黏膜的修复。

© 2013年版权归 百世登出版集团有限公司

关键词: 骨髓间充质干细胞; 溃疡性结肠炎; 修复; 血管内皮; 炎症

核心提示: 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem

cells)对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)有良好的治疗作用, 能够分化为结肠组织黏膜血管内皮细胞, 促进血管内皮修复。

张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星. 骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(28): 2908-2914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2908.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2908>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 是一类病因尚未完全明确的肠道非特异性炎症性疾病。UC伴随结肠黏膜损伤和肠道炎症, 修复受损肠黏膜、抑制肠道炎症是治疗的关键。近年来的研究表明, 血管生成在UC结肠黏膜组织修复的过程中具有十分重要的意义^[1,2]。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种具有多分化潜能的细胞, 在特定条件下能诱导分化形成各种非造血组织^[3-5], 另外还具有很强的免疫调节作用^[6-8], 是用于组织工程和细胞治疗的理想细胞。本实验通过建立大鼠UC模型, 观察MSCs是否能分化为血管内皮细胞从而促进UC大鼠结肠受损部位血管生成, 另外观察其改善肠道炎症的情况, 为MSCs移植治疗UC提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD大鼠, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供[实验动物质量合格证SCKY(鄂)2008-0005, No: 4200696100; 实验动物设施使用证明SYXK(鄂)2010-0057, No: 00116132]。3-4周龄雄性大鼠5只, 体质量160 g \pm 20 g, 用于制备移植细胞; 6-8周龄♀大鼠30只, 体质量250 g \pm 20 g, 用于制作UC模型。2,4,6-三硝基苯磺酸(Sigma, P2297); 大鼠SRY DNA原位荧光杂交染色系统(天津市灏洋生物, RAT-2009BIO); 兔抗大鼠CD34单克隆抗体(bioss, bs-0217R); 生物素标记蓖麻凝集素(RCAI, Vector公司); 浓缩型DAB显色剂(bioss, C-0010); TRIzol(Invitrogen公司); 兔抗羊IgG-AP(武汉博士德, BA1011), SABC-Cy3试剂盒(武汉博士德, SA2001); DAPI(Sigma公司, D9564); 逆转录试剂盒(Fermentas); SYBR Green定量PCR试剂盒(Roche公司); 大鼠白介素6(interleukin-6, IL-6)酶联免疫吸附测定试剂盒、大鼠白介素10(in-

■ 研发前沿

目前已有大量实验证明MSCs能在体内外分化为各种非造血组织, 其免疫调节作用也得到广泛认同, 但是其具体的分化机制及免疫调节机制尚不明确, 尚需进一步研究。

■相关报道

有研究表明MSCs移植对UC的修复有明显的促进作用,可能与其分化、旁分泌、免疫调节能力有关。

terleukin-10, IL-10)酶联免疫吸附测定试剂盒(伊莱瑞特, E-EL-R0015/E-EL-R0016); 实时荧光定量PCR仪(ABI7900HT); 荧光显微镜带自动照相和数字成像装置(OLYMPUS, BX58)。

1.2 方法

1.2.1 MSCs的分离、传代与鉴定: ♂大鼠颈椎脱臼法处死, 750 mL/L乙醇浸泡消毒, 无菌取双侧股骨和胫骨, 剔除骨表面的软组织, 于磷酸盐缓冲液(PBS)中剪断两端骨髓, 用PBS(20G针头)反复冲洗骨髓腔, 直到骨髓腔清亮, 去除红细胞, 收集骨髓细胞于15 mL离心管中, 轻拨动试管弹开细胞, 用完全培养基重悬, 转移至25 cm²培养瓶中, 轻轻摇匀, 置于CO₂细胞培养箱中培养。48 h后换新鲜培养基以去除未贴壁的细胞, 以后每隔3 d换一次液, 当贴壁细胞达到80%融合后, 0.25%的胰蛋白酶消化, 以1:3的比例传代培养。取第3代细胞留用。取第3代MSC以0.25%胰蛋白酶消化, 室温离心5 min, 弃上清, 以PBS制成单细胞悬液, 每管100 μ L, 分别加入荧光标记的CD29、CD90、CD45、CD11b, 4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min, 加入PBS清洗, 离心后弃上清, 除去未结合的荧光抗体, 加1 mL PBS悬浮上机检测。

1.2.2 UC模型制备及分组: 用三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇复合法^[9]局部灌肠法建立溃疡性结肠炎大鼠模型。在禁食不禁饮24 h条件下, 用10%的水合氯醛每3 mL/kg腹腔注射麻醉, 麻醉后将内径约2 mm的导尿管从肛门缓慢插入约8 cm, 向导尿管内注入500 mL/L的乙醇0.25 mL, 继而注入0.6 mL TNBS, 提起大鼠尾部倒立约30 s, 待清醒后自由进食和饮水。将30只SD♀大鼠随机分为: 正常组、模型组、MSCs组, 每组10只。模型组和MSCs组建立大鼠UC模型。24 h后, 正常组和模型组经尾静脉注入生理盐水1 mL; MSCs组经尾静脉注入1 \times 10⁶个MSCs悬液1 mL。建立模型后, 观察大鼠日常活动、进食以及腹泻和黏液脓血便情况。2 wk后, 留取每只大鼠远端结肠组织长约8 cm, 比较各组大鼠结肠组织病理学变化。取病变明显的结肠组织一部分迅速置于液氮中保存; 另一部分置于10倍标本体积以上的40 g/L甲醛溶液中, 24 h内石蜡包埋并HE染色切片。

1.2.3 荧光原位杂交结合免疫荧光染色: (1)Y染色体DNA荧光原位杂交: 结肠组织连续切片, 常规脱蜡, 置于枸橼酸缓冲液浸泡10 min; 置打孔液中室温10 min, 磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗2次, 加500 g/L去离子甲酰胺60 $^{\circ}$ C 1 h, 2 \times SSC洗1次,

加2 mol/L盐酸室温30 min, PBS冲洗2次, 置90 $^{\circ}$ C水浴中加热15 min后迅速置4 $^{\circ}$ C冰育液中; 滴加复合消化工作液, 室温10 min; 滴加预杂交工作液覆盖组织37 $^{\circ}$ C湿盒孵育6 h, 盖上盖玻片; 滴加杂交工作液覆盖组织37 $^{\circ}$ C湿盒孵育10 h; 杂交后洗涤; DAPI复染细胞核, 甲醇DAPI溶液37 $^{\circ}$ C孵育组织切片15 min, 甩片, 甘油封片; (2)免疫荧光染色检测CD34表达: 结肠组织连续切片、拷片、脱蜡复水; 抗原修复后, 3% H₂O₂室温避光下孵育20 min, PBS漂洗3次; 滴加正常山羊血清封闭液, 室温封闭30 min; 滴加兔抗大鼠CD34单克隆抗体, 置于湿盒中, 4 $^{\circ}$ C过夜; 滴加生物素化兔抗羊抗体, 37 $^{\circ}$ C湿盒孵育30 min; 加SABC-CY3室温30 min(避光); PBS洗3次, 甘油封片; 滴加DAPI避光孵育5 min, 进行核复染; 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 在荧光显微镜下观察采集图像; (3)各组结肠组织切片按以上步骤处理后, 在荧光显微镜下, FAM激发波长 λ = 510 nm, 观察采集位于细胞核内的黄绿色荧光图像。DAPI激发波长 λ = 360 nm, 观察采集细胞核内的蓝色荧光图像。CY3激发波长 λ = 550 nm, 观察采集位于细胞浆的红色荧光。应用Image2pro3DS 5.1图像处理软件进行图片扫描、取图、图像叠加。

1.2.4 免疫组织化学SP法检测CD34的表达: 常规脱蜡, 抗原修复后用PBS振荡浸洗3遍, 室温正常山羊血清封闭1 h, 加一抗, 4 $^{\circ}$ C湿盒中孵育过夜, 加生物素化二抗, 湿盒中37 $^{\circ}$ C孵育30 min, 加SABC复合物, 湿盒中37 $^{\circ}$ C孵育30 min, DAB显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 中性树胶封片。用PBS代替一抗, 同等条件下做阴性对照。结果判断: CD34阳性表达为细胞质呈棕黄色。阳性表达细胞计数标准: 每张切片随机选取5个高倍视野(\times 200), 分别计数200个细胞, 计算阳性细胞百分比。

1.2.5 RT-PCR技术检测CD34的表达: 按照TRIzol试剂盒说明书提取结肠组织细胞总RNA, 逆转录成cDNA。取2 μ L转录产物作模板, 引物序列如下: β -actin f: 5'-CACGATGGAGGGGCCG-GACTCATC-3', β -actin r: 5'-TAAAGACCTC-TATGCCAACACAGT-3', 扩增长度240 bp; CD34 f: 5'-ACTTCTGTTGCCTCGGAGAA-3', CD34 r: 5'-ACGGTTGGGTAAAGTCTGTGG-3', 扩增长度248 bp。反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 54 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 25 s; 30个循环, 72 $^{\circ}$ C 4 min, 4 $^{\circ}$ C 4 min。采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}方法分析各组相对基因表

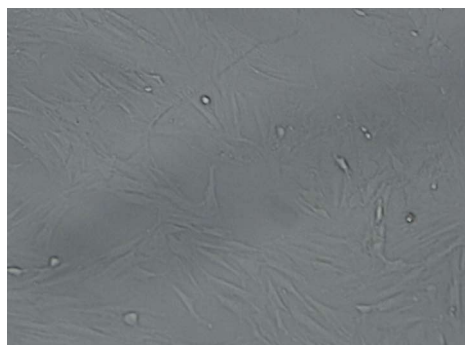


图1 培养的第3代骨髓间充质干细胞($\times 200$).

达差异.

1.2.6 ELISA检测结肠组织IL-6、IL-10的表达: 将组织样品称质量, 按组织质量: PBS体积 = 1 : 9的比例用预冷的PBS将组织样品匀浆, 4°C 10000 r/min离心10 min, 小心吸取上清检测. ELISA实验步骤参照说明书进行, 采用酶标仪测A值.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学数据分析, 计量资料数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用单因素方差分析, 两两比较用LSD法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MSC形态学特征及鉴定 原代细胞接种24 h后可见散在分布的贴壁细胞, 为短梭形、椭圆形、长梭形; 15 d左右, 细胞的体积亦较刚贴壁时增大, 呈旋涡状排列. 经消化、传代后, 第3代MSCs在24 h内即可完全贴壁、伸展, 呈纺锤状、折光性好(图1). 流式细胞术分析表明第3代MSCs、CD29和CD90均高表达, CD45和CD11b均低表达, 可判定最终培养的细胞为MSCs.

2.2 一般状况改变 造模后24 h, 正常组大鼠一般状况无明显改变. 其余两组大鼠均出现不同程度的竖毛、喜扎堆、活动迟缓, 并出现稀便和黏液脓血便, 说明大鼠UC造模成功^[10]. MSCs组经治疗后大鼠饮食、体质量逐渐增加, 大便次数减少、便血或大便隐血逐渐消失.

2.3 病理观察 病变结肠组织切片后常规HE染色, 镜下观察可见: 正常组: 结肠组织黏膜结构完整、连续, 腺体排列整齐, 黏膜内血管基质和纤维间质正常; 模型组: 结肠组织黏膜结构异常, 黏膜腺体破坏, 排列不规则, 杯状细胞减少, 黏膜和黏膜下层明显充血水肿, 可见黏膜局灶糜烂和溃疡, 有的溃疡深及黏膜肌层, 在黏膜层及黏膜下层可见大量炎性细胞浸润; MSCs组: 结

表1 各组大鼠结肠组织中CD34阳性细胞百分比及mRNA相对表达结果($n = 10$, $\text{mean} \pm \text{SD}$)

分组	阳性细胞百分比(%)	mRNA相对表达
正常组	2.25 ± 3.97	1.000 ± 0.113
模型组	11.81 ± 2.76^a	1.629 ± 0.067^a
MSCs组	21.42 ± 1.69^c	2.502 ± 0.189^c

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

肠组织黏膜结构尚完整, 黏膜层和黏膜下固有层充血、水肿较轻, 溃疡较浅表, 腺体增生活跃, 杯状细胞增多, 炎性细胞浸润减少(图2).

2.4 Y染色体和CD34双阳性细胞表达 正常组和模型组结肠组织免疫荧光切片可见位于细胞浆的红色荧光, 即CD34阳性, 主要分布在黏膜固有层和黏膜下层的血管内皮细胞中, 未发现细胞核内有黄绿色荧光, 即Y染色体STRY FISH阴性. MSCs移植组结肠组织切片可蓝色荧光的细胞核内有绿色荧光亮点, 即Y染色体STRY FISH阳性表达. 连续切片显示部分Y染色体阳性细胞, 荧光显微镜下可见位于细胞浆的红色荧光, 即Y染色体和CD34双阳性细胞表达. 观察到Y染色体阳性细胞在结肠组织固有层和黏膜下层的血管内皮细胞中均有分布(图3).

2.5 免疫组织化学结果 正常组少见CD34阳性表达; 模型组和MSCs组可见CD34阳性表达, 主要见于结肠组织黏膜及黏膜下层的血管内皮细胞中(图4); 模型组和MSCs组CD34表达较正常组增高($P < 0.05$), MSCs组CD34的表达较模型组增高($P < 0.05$, 表1).

2.6 RT-PCR结果 较正常组, 模型组及MSCs组CD34表达增高($P < 0.05$); 较模型组, MSCs组CD34表达增高($P < 0.05$, 表1). 说明结肠损伤后, CD34表达增高, 并提示MSCs能促进CD34的表达.

2.7 ELISA结果 模型组及MSCs组IL-6的水平较正常组显著增高($P < 0.01$), MSCs组IL-6的水平较模型组显著降低($P < 0.01$), 提示MSCs能降低UC大鼠结肠组织中IL-6的水平. 模型组及MSCs组IL-10的水平较正常组显著减低($P < 0.01$), MSCs组中IL-10的水平比模型组显著增高($P < 0.01$, 图5), 说明MSCs能提高UC大鼠结肠组织中IL-10的水平.

3 讨论

最近研究表明, UC愈合不良与受损结肠微血管

■创新盘点

关于MSCs治疗UC的研究尚比较少见, 本文通过Y-FISH结合免疫荧光的方法研究MSCs是否能分化为UC结肠血管内皮细胞.

■应用要点

MSCs来源广泛、取材容易,易于体外培养扩增,且体内植入排斥反应较弱,是一种用于细胞治疗的理想细胞。本文为MSCs用于治疗UC提供了一定的理论依据。

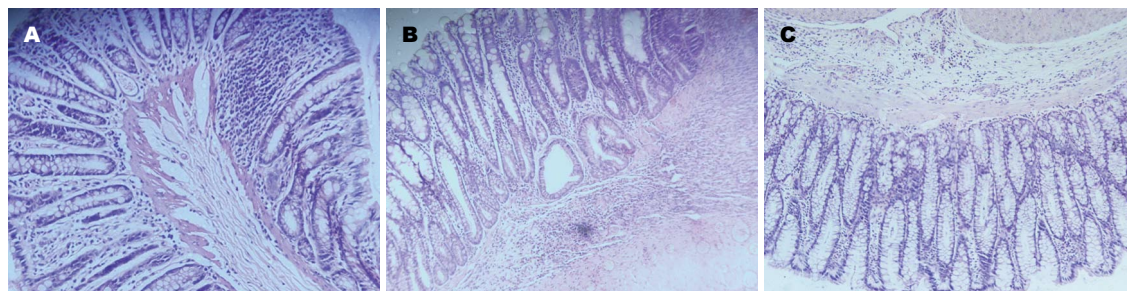


图2 各组大鼠病变结肠组织病理观察(HE × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

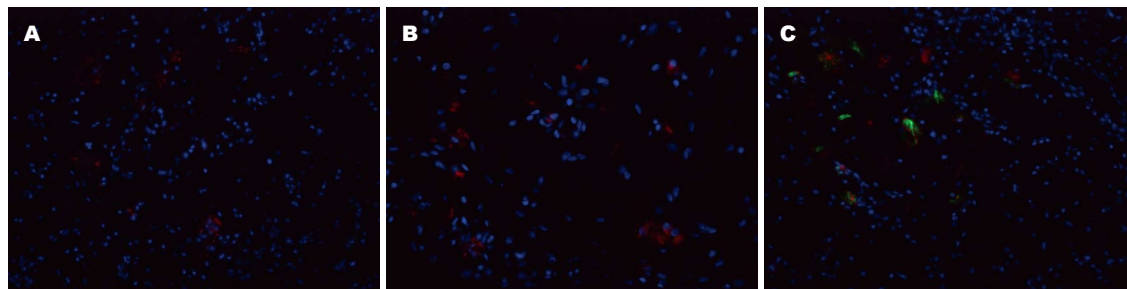


图3 SRY FISH和CD34免疫荧光染色(× 400). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

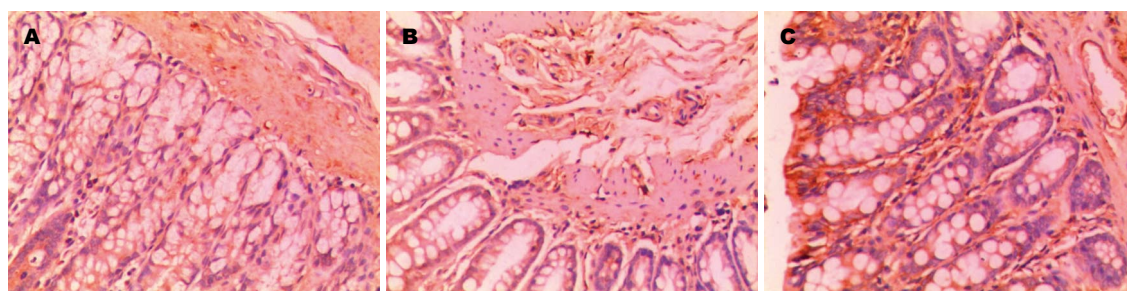


图4 CD34在各组大鼠结肠黏膜中的表达(SP × 200). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

功能障碍和内皮屏障缺陷导致组织持续低灌注和缺血密切相关^[11]. 损伤的结肠组织需要肉芽组织来修复,包括沉积的结缔组织基质、成纤维细胞和血管生成,从而重建结肠黏膜微血管,提供氧气和营养^[12]. 血管生成是UC治疗中的重要部分,重建血管是溃疡或伤口愈合的关键,是肉芽组织关键组成部分,新生的毛细血管和大血管提供氧气和营养,使纤维母细胞增生,形成临时疏松肉芽组织^[1,13]. 肉芽组织是取代不能再生的细胞如平滑肌细胞(肠道壁最大组成部分)的唯一选择.

MSCs是一群存在于骨髓中的非造血成体干细胞,具有多向分化的潜能^[14,15],并可向特定的靶器官迁徙、定植,能分化平滑肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞和内皮细胞^[16,17]. MSCs具有内皮细胞的部分表型, MSCs可表达

vWF、SH2因子和内皮细胞黏附分子-1,以上因子均能在内皮细胞上表达且分别与内皮细胞的损伤、游走和活化有关^[18,19]. 另外,在机体组织发生损伤时, MSCs会迁移到损伤部位参与组织的修复^[20-22]. 有研究表明, MSC移植到心肌梗死模型中,可以分化为血管内皮,使心肌中的毛细血管密度显著增加^[23,24]. 说明MSCs具有分化成内皮细胞从而修复损伤结肠的潜能,关于MSCs移植分化为结肠血管内皮的报道尚比较罕见. CD34是一种高度糖基化跨膜蛋白,主要存在于幼稚的造血干细胞和造血祖细胞质膜以及内皮细胞的祖细胞表面,可作为内皮细胞的标志物,在内皮细胞胞浆中表达. 在MSCs组结肠组织连续切片上发现,部分Y染色体阳性的细胞中同时可见CD34阳性表达,说明雄性供体MSCs移植后能定植到受损结肠部位,并分化成为结肠血管

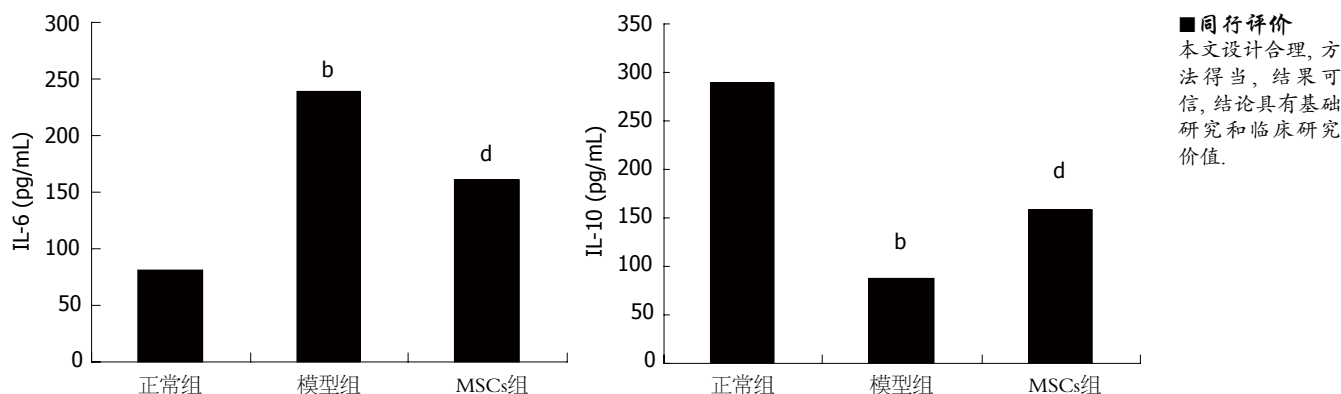


图 5 结肠组织中IL-6、IL-10的表达. ^b $P<0.01$ vs 正常组; ^d $P<0.01$ vs 模型组. MSCs: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素.

内皮细胞, 促进血管内皮的修复, 从而促进结肠血液动力学的恢复, 使受损的黏膜组织微循环得以重建, 组织血氧供应增加, 进而促进肉芽组织生成, 促进结肠黏膜修复.

根据在炎症反应中的作用可将细胞因子分为促炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6等和抗炎因子IL-10、IL-4等, 这两类细胞因子的失衡与UC的发病密切相关. IL-6在UC的发病过程其重要作用, 其增高是UC发病的主要特征之一^[25,26], 其血浆中的浓度与溃疡性结肠炎病变范围和病变严重程度成正相关^[27]; IL-10是维持正常肠道黏膜免疫调节与稳定肠道黏膜内环境的重要因子, 在结肠炎的发展和愈合中起重要作用^[28,29]. MSCs有很强的免疫调节能力, 可以抑制T细胞增殖、影响树突细胞的成熟及功能、抑制B细胞增殖和分化, 对其他的免疫细胞如NK细胞、巨噬细胞也有免疫调制的作用^[30,31]. MSCs移植后结肠组织IL-6表达降低, IL-10表达增高, 说明MSCs能通过调节促炎细胞因子和抑炎细胞因子失衡从而对UC大鼠起治疗作用. 另外, MSCs组炎症水平的降低可能与MSCs治疗后血流动力学恢复从而使促进炎症吸收有关.

总之, 本研究表明MSCs对UC有良好的治疗作用, 能够分化为结肠组织黏膜血管内皮细胞, 促进血管内皮修复, 另外能调节促炎因子IL-6和抑炎因子IL-10的表达, 为MSCs应用于UC的治疗提供了理论依据.

4 参考文献

- 1 Szabo S, Deng X, Tolstanova G, Khomenko T, Pautnovic B, Chen L, Jadus M, Sandor Z. Angiogenic and anti-angiogenic therapy for gastrointestinal ulcers: new challenges for rational therapeutic predictions and drug design. *Curr Pharm Des* 2011; 17:

- 1633-1642 [PMID: 21548866 DOI: 10.2174/138161211796197034]
- 2 Tolstanova G, Khomenko T, Deng X, Szabo S, Sandor Z. New molecular mechanisms of the unexpectedly complex role of VEGF in ulcerative colitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 399: 613-616 [PMID: 20682292 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.07.124]
- 3 Liu J, Liu C, Sun B, Shi C, Qiao C, Ke X, Liu S, Liu X, Sun H. Differentiation of Rabbit Bone Mesenchymal Stem Cells into Endothelial Cells In Vitro and Promotion of Defective Bone Regeneration In Vivo. *Cell Biochem Biophys* 2013 Aug 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23943083]
- 4 Maxson S, Lopez EA, Yoo D, Danilkovitch-Miagkova A, Leroux MA. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 142-149 [PMID: 23197761 DOI: 10.5966/sctm.2011-0018]
- 5 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814 DOI: 10.1126/science.284.5411.143]
- 6 MacFarlane RJ, Graham SM, Davies PS, Korres N, Tsouchnica H, Heliotis M, Mantalaris A, Tsiridis E. Anti-inflammatory role and immunomodulation of mesenchymal stem cells in systemic joint diseases: potential for treatment. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 243-254 [PMID: 23293906 DOI: 10.1517/14728222.2013.746954]
- 7 Kuo YR, Chen CC, Goto S, Lin PY, Wei FC, Chen CL. Mesenchymal stem cells as immunomodulators in a vascularized composite allotransplantation. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 854846 [PMID: 23227090 DOI: 10.1155/2012/854846]
- 8 Auletta JJ, Bartholomew AM, Maziarz RT, Deans RJ, Miller RH, Lazarus HM, Cohen JA. The potential of mesenchymal stromal cells as a novel cellular therapy for multiple sclerosis. *Immunotherapy* 2012; 4: 529-547 [PMID: 22642335 DOI: 10.2217/imt.12.41]
- 9 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF- κ Bp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2009; 29: 650-654 [PMID: 19821103 DOI: 10.1007/s11596-009-0523-4]
- 10 Brenna Ø, Furnes MW, Drozdov I, van Beelen Granlund A, Flatberg A, Sandvik AK, Zwiggelaar

■ 同行评价

本文设计合理, 方法得当, 结果可信, 结论具有基础研究和临床研究价值.

- RT, Mårvik R, Nordrum IS, Kidd M, Gustafsson BI. Relevance of TNBS-colitis in rats: a methodological study with endoscopic, histologic and Transcriptional [corrected] characterization and correlation to IBD. *PLoS One* 2013; 8: e54543 [PMID: 23382912 DOI: 10.1371/journal.pone.0054543]
- 11 Deng X, Szabo S, Chen L, Paunovic B, Khomenko T, Tolstanova G, Tarnawski AS, Jones MK, Sandor Z. New cell therapy using bone marrow-derived stem cells/endothelial progenitor cells to accelerate neovascularization in healing of experimental ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1643-1651 [PMID: 21548863]
 - 12 Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AW. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131: 117-129 [PMID: 16831596 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.020]
 - 13 Danese S, Papa A, Scaldaferrì F, Graziani C, Bonizzi M, Armuzzi A, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. A novel pathogenic role for microvasculature in inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 3-5 [PMID: 16494103]
 - 14 Dawn B, Bolli R. Adult bone marrow-derived cells: regenerative potential, plasticity, and tissue commitment. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 494-503 [PMID: 16237509 DOI: 10.1007/s00395-005-0552-5]
 - 15 Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells* 2004; 22: 487-500 [PMID: 15277695 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-487]
 - 16 Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol* 2009; 217: 318-324 [PMID: 19023885 DOI: 10.1002/path.2469]
 - 17 Maul TM, Chew DW, Nieponice A, Vorp DA. Mechanical stimuli differentially control stem cell behavior: morphology, proliferation, and differentiation. *Biomech Model Mechanobiol* 2011; 10: 939-953 [PMID: 21253809 DOI: 10.1007/s10237-010-0285-8]
 - 18 Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1185-1189 [PMID: 12714439 DOI: 10.1161/01.ATV.0000073832.49290.B5]
 - 19 Nosedà M, McLean G, Niessen K, Chang L, Pollet I, Montpetit R, Shahidi R, Dorovini-Zis K, Li L, Beckstead B, Durand RE, Hoodless PA, Karsan A. Notch activation results in phenotypic and functional changes consistent with endothelial-to-mesenchymal transformation. *Circ Res* 2004; 94: 910-917 [PMID: 14988227 DOI: 10.1161/01.RES.0000124300.76171.C9]
 - 20 Wu Y, Wang J, Scott PG, Tredget EE. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S18-S26 [PMID: 17727462 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00221.x]
 - 21 Ren G, Chen X, Dong F, Li W, Ren X, Zhang Y, Shi Y. Concise review: mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 51-58 [PMID: 23197640 DOI: 10.5966/sctm.2011-0019]
 - 22 Mahmood A, Lu D, Lu M, Chopp M. Treatment of traumatic brain injury in adult rats with intravenous administration of human bone marrow stromal cells. *Neurosurgery* 2003; 53: 697-702; discussion 702-703 [PMID: 12943585]
 - 23 Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, Yamagishi M, Mori H, Kangawa K, Kitamura S. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2670-H2676 [PMID: 15284059]
 - 24 Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Miyahara Y, Fujii T, Uematsu M, Ohgushi H, Yamagishi M, Tokudome T, Mori H, Miyatake K, Kitamura S. Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112: 1128-1135 [PMID: 16103243 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.500447]
 - 25 Galvez-Llompарт M, Del Carmen Recio Iglesias M, Gálvez J, García-Domenech R. Novel potential agents for ulcerative colitis by molecular topology: suppression of IL-6 production in Caco-2 and RAW 264.7 cell lines. *Mol Divers* 2013; 17: 573-593 [PMID: 23793777 DOI: 10.1007/s11030-013-9458-6]
 - 26 Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF-kappaB activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4145-4151 [PMID: 20806430 DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4145]
 - 27 Atreya R, Neurath MF. Involvement of IL-6 in the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clin Rev Allergy Immunol* 2005; 28: 187-196 [PMID: 16129903]
 - 28 Bamba S, Lee CY, Brittan M, Preston SL, Direkze NC, Poulosom R, Alison MR, Wright NA, Otto WR. Bone marrow transplantation ameliorates pathology in interleukin-10 knockout colitic mice. *J Pathol* 2006; 209: 265-273 [PMID: 16550633 DOI: 10.1002/path.1967]
 - 29 Fischbeck A, Leucht K, Frey-Wagner I, Bentz S, Pesch T, Kellermeier S, Krebs M, Fried M, Rogler G, Hausmann M, Humpf HU. Sphingomyelin induces cathepsin D-mediated apoptosis in intestinal epithelial cells and increases inflammation in DSS colitis. *Gut* 2011; 60: 55-65 [PMID: 21076125 DOI: 10.1136/gut.2009.201988]
 - 30 Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776 DOI: 10.1007/s12272-012-0202-z]
 - 31 Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócsa E, Vas V, Monostori E, Uher F. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 2008; 26: 244-253 [PMID: 17932424 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0267]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



USP22、MTA1及Ki-67蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性

郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛

郑文凤, 李颖霞, 温洪涛, 郑州大学第一附属医院消化内科
河南省郑州市 450052

陈奎生, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省郑州市
450052

郑文凤, 在读硕士研究生, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 课题设计、主要实验、数据分析及文章书写由
郑文凤完成; 病理组织选择、样本取材由陈奎生完成; 实验器材
及分析工具由陈奎生提供; 文章审阅和指导修改由李颖霞与温
洪涛完成。

通讯作者: 温洪涛, 教授, 博士, 硕士生导师, 450052, 河南省郑
州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

wenhongtao68@163.com

电话: 0371-66862073

收稿日期: 2013-07-19 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Expression of USP22, MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma

Wen-Feng Zheng, Ying-Xia Li, Kui-Sheng Chen,
Hong-Tao Wen

Wen-Feng Zheng, Ying-Xia Li, Hong-Tao Wen, Department
of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of
Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Prov-
ince, China

Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affili-
ated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052,
Henan Province, China

Correspondence to: Hong-Tao Wen, Professor, Depart-
ment of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of
Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450052,
Henan Province, China. wenhongtao68@163.com

Received: 2013-07-19 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of ubiquitin
specific peptidase 22 (USP22), metastasis as-
sociated gene 1 (MTA1) and nuclear associated
antigen (Ki-67) in esophageal squamous cell car-
cinoma (ESCC) and to analyze their relationship
with clinicopathologic features of ESCC.

METHODS: Immunohistochemistry was used
to detect the expression of USP22, MTA1 and
Ki-67 proteins in ESCC, matched tumor-adjacent
tissue and normal esophageal tissue. The corre-
lation between the expression of these proteins
and clinicopathologic features of ESCC was ana-
lyzed.

RESULTS: The positive rate of USP22 expres-
sion in ESCC was significantly higher than that
in tumor-adjacent tissue and normal esophageal
tissue (68.18% vs 36.36%, 15.91%, both $P < 0.05$).
Expression of USP22 was significantly associ-
ated with tumor invasion depth and histological
grade, but not with age, sex or lymph node me-
tastasis. The positive rate of MTA1 expression
was also significantly higher in ESCC than in
tumor-adjacent tissue and normal esophageal
tissue (61.36% vs 31.82%, 6.82%, both $P < 0.05$).
MTA1 expression was significantly associated
with lymph node metastasis, tumor invasion
depth and histological grade, but not with age
or sex. The positive rate of Ki-67 expression
was also significantly higher in ESCC than in
tumor-adjacent tissue and normal esophageal
tissue (70.45% vs 43.18%, 11.36%, both $P < 0.05$).
Expression of Ki-67 was significantly associated
with lymph node metastasis, tumor invasion
depth and histological grade, but not with age
or sex. USP22 protein expression was posi-
tively correlated with the expression of MTA1
and Ki-67 proteins; however, the expression of
MTA1 protein was not significantly correlated
with that of Ki-67 protein.

CONCLUSION: USP22, MTA1 and Ki-67 may
participate in the occurrence and metastasis of
esophageal carcinoma. Combined detection of
the expression of these proteins will be helpful
to the diagnosis of esophageal carcinoma and
accurate determination of the biological behav-
ior of this malignancy. USP22, MTA1 and Ki-67
may become new targets for gene therapy of
esophageal carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All
rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma;
USP22; MTA1; Ki-67

Zheng WF, Li YX, Chen KS, Wen HT. Expression of USP22,
MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma.
Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2915-2921 URL:
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2915.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2915>

■背景资料

食管癌是人类最
常见的恶性肿瘤
之一,近年来随着
对食管癌发病机
制的不断深入研
究,泛素特异性肽
酶(USP22)成为研
究的热点,对食管
癌的诊断及探索
新的有效治疗方
式有一定的意义。

■同行评议者

张力为,副教授,新
疆医科大学第一
附属医院胸外科

■ 研究前沿

食管癌的发病机制、诊断及靶向治疗越来越受到医学界的关注,而新的肿瘤标志基因*USP22*在食管癌中的研究较少,*USP22*在食管癌发病中的具体机制、与*MTA1*、*Ki-67*如何相互作用促进肿瘤形成及浸润转移是目前需要研究的问题。

摘要

目的: 探讨泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, *USP22*), 转移相关基因1(metastasis associated gene 1, *MTA1*)及细胞增殖核抗原(nuclear associated antigen, *Ki-67*)在人食管鳞癌组织中的表达、与肿瘤生物学行为的关系以及他们三者之间的相关性。

方法: 采用免疫组织化学的方法检测*USP22*、*MTA1*及*Ki-67*在人食管鳞癌组织、癌旁组织及正常组织的表达,探讨上述三者在不同组织中表达的特点及他们相互之间的相关性。

结果: (1)*USP22*的阳性表达率: 食管鳞癌组织68.18%, 癌旁组织36.36%, 正常组织15.91%, 两两组间比较, 均 $P<0.05$, 差异均具有统计学意义; *USP22*蛋白的阳性表达率与肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与淋巴结转移、年龄、性别无关; (2)*MTA1*的阳性表达率: 食管鳞癌组织61.36%, 癌旁组织31.82%, 正常组织6.82%, 两两组间比较, 均 $P<0.05$, 差异均具有统计学意义; *MTA1*蛋白的阳性表达率与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与年龄、性别无关; (3)*Ki-67*的阳性表达率: 食管鳞癌组织70.45%, 癌旁组织43.18%, 正常组织11.36%, 两两组间比较, 均 $P<0.05$, 差异均具有统计学意义; *Ki-67*蛋白的阳性表达率与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与年龄、性别无关; (4)*USP22*蛋白的表达与*MTA1*蛋白的表达呈正相关; *USP22*蛋白的表达与*Ki-67*蛋白的表达呈正相关; *MTA1*蛋白的表达与*Ki-67*蛋白的表达无相关性。

结论: *USP22*、*MTA1*及*Ki-67*参与食管癌的发生发展、浸润转移, 三者联合检测将有助于食管癌的诊断, 可更准确地判断食管癌的生物学行为, 并有望成为食管癌基因治疗的新靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管鳞癌; *USP22*; *MTA1*; *Ki-67*

核心提示: 泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, *USP22*)、转移相关基因1(metastasis associated gene 1, *MTA1*)及*Ki-67*共同参与食管癌的发生发展、浸润转移, *USP22*与*MTA1*及*Ki-67*在肿瘤的形成中有一定程度的协同作用, 三者可作为食管癌潜在的分子标记物, 联合检测可以更准确地判断食管癌的生物学行为, 对食管癌患者的早期诊断及分子靶向治疗具有推动作用。

郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛. *USP22*、*MTA1*及*Ki-67*蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2915-2921 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2915.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2915>

0 引言

食管癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 在某些地区位于发病率和死亡率的首位^[1,2]. 多种基因共同参与食管癌的发生发展、浸润转移. 泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, *USP22*), 定位于人17号染色体上, 由14个外显子组成, 编码525个氨基酸(分子量约60 kDa), 包括半胱氨酸、天冬氨酸、组氨酸、冬氨酸/天冬酰胺, 以及泛素特异性加工酶(ubiquitin-specific processing proteases, UBP)家族去泛素酶的高度保守区域等. *USP22*具有一个氨基末端的锌指基序, 是介导*USP22*分子与底物靶蛋白相互作用的结构基础^[3]. 去泛素酶在调节蛋白酶体活性、转录调控及肿瘤形成等方面具有重要作用^[4]. *USP22*表达于早期胚胎和成人多种组织, 适度表达于心脏和骨骼肌, 但弱表达于肺和肝脏^[5]. 研究发现, *USP22*参与胚胎发育、调节细胞周期及端粒动态平衡等, 从而参与肿瘤的发生、发展^[5-7]. 转移相关基因1(metastasis associated gene 1, *MTA1*)是Pencil等^[8]利用相差杂交技术从鼠乳腺癌细胞13762NF中分离出的, 因与肿瘤转移能力呈正相关, 被命名为*MTA1*. 应用荧光原位杂交技术发现人*MTA1*基因位于14号染色体^[9], *MTA1*是通过其蛋白参与信号转导, 直接或间接地作用于某些促进肿瘤浸润、转移的基因, 上调其转录^[10]. 细胞增殖核抗原(nuclear associated antigen, *Ki-67*)是一种核抗原, 1983年由Scholzen等^[11]研究Hodgkin淋巴瘤L428细胞系时发现, *Ki-67*基因位于10号染色体上. *Ki-67*可以较好地反映细胞的增殖活性, *Ki-67*蛋白的表达与恶性肿瘤的发展、转移及预后有关^[12]. 肿瘤的发生发展、浸润、转移是多步骤, 多阶段的, 涉及多种基因及其产物的表达. 目前, 在食管癌中联合检测*USP22*、*MTA1*及*Ki-67*蛋白的表达尚未见报道, 本研究采用免疫组织化学方法检测*USP22*、*MTA1*及*Ki-67*在食管癌中的表达情况及相互之间的关系, 可能为食管癌患者的早期诊断、分子靶向治疗等带来新的前景。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2011-12于我院手术切除

表 1 3种组织中USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达 ($n = 44$)

分组	USP22蛋白				MTA1蛋白				Ki-67蛋白			
	-	+	(%)	P 值	-	+	(%)	P 值	-	+	(%)	P 值
正常组织	37	7	15.91	<0.05	41	3	6.82	<0.05	39	5	11.36	<0.05
癌旁组织	28	16	36.36		30	14	31.82		25	19	43.18	
食管鳞癌	14	30	68.18		17	27	61.36		13	31	70.45	

USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原.

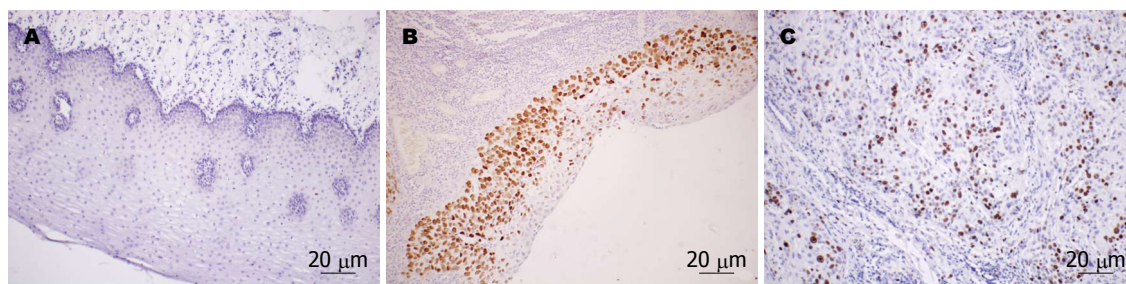


图 1 3种组织中USP22蛋白的表达. A: USP22在正常组织中的阴性表达(SP × 200); B: USP22在癌旁组织中的阳性表达(SP × 200); C: USP22在食管鳞癌中的强阳性表达(SP × 200). USP22: 泛素特异性肽酶22.

44例患者的食管癌, 癌旁(距离癌床组织边缘3 cm以内)及正常组织(自手术切缘或癌组织边缘3 cm以外), 上述患者手术之前均未进行放化疗, 靶向治疗及中药等相关治疗, 术后均被病理所证实. 其中男27例, 女17例, 年龄45-82岁, 年龄分层: ≤60岁的22例, >60岁的22例; 组织学分级: 高及高中分化(I / I - II级)15例, 中分化(II级)15例, 低及中低分化(III / II - III)14例; 局部淋巴结转移: 无转移19例, 有转移25例; 浸润深度: 浸润全层(突破肌层至外膜)23例, 未浸润全层(未突破肌层)21例. 兔抗人USP22多克隆抗体购于英国Abcam公司, 兔抗人MTA1多克隆抗体购于武汉博士德生物工程有限公司, 兔抗人Ki-67多克隆抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司, SP免疫组织化学染色系列试剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法 采用SP免疫组织化学染色法进行试验, 所有试验操作步骤均按各自说明书严格进行, 用已知的阳性乳腺癌切片作为阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照.

USP22及MTA1的结果判定: 阳性细胞总数量≤25%为1分, 26-50%为2分, 51-75%为3分, >75%为4分. 染色强度, 无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. 根据上述两项指标评分乘积进行分级: 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(++), 大于4分为强阳性

(+++). 统计学处理时将分级≥1分归为阳性, 记为“+”.

Ki-67的结果判定: 采用相对定量法: 对每张切片随机选取5个高倍镜视野, 每个视野计数200个细胞, 计算阳性细胞占镜下细胞的百分比. 阳性细胞比率<10%为(-), 10%-25%为(+), 26%-50%为(++), >50%为(+++). 统计学处理时将阳性细胞数≥10%归为阳性, 记为“+”.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行分析, 各组之间率的比较采用 χ^2 检验, 相关分析采用Spearman检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 正常组织、癌旁组织、食管鳞癌组织中USP22、MTA1及Ki-67的表达 USP22蛋白主要表达于细胞核, 呈棕黄色颗粒; MTA1蛋白阳性染色定位于细胞质和细胞核, 以细胞核为主, 呈棕黄色颗粒; Ki-67蛋白主要在细胞核表达, 部分细胞胞浆也呈阳性反应, 呈棕黄色颗粒(图1-3, 表1).

2.2 USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达与食管鳞癌临床病理参数之间的关系 由表2可知, USP22的表达与肿瘤浸润深度、组织学分级有关, 而与淋巴结转移、年龄及性别无关; MTA1及Ki-67蛋白的表达与淋巴结转移、肿瘤浸润深度、组

■相关报道

Ki-67、MTA1蛋白的高表达与肿瘤的分化程度、浸润转移有关, USP22蛋白的高表达与肿瘤的分化程度、浸润深度有关, 与淋巴结转移无关. 在食管癌中USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性未见报道.

■创新盘点

本文首次探讨了 USP22、MTA1 及 Ki-67 在食管癌中表达的相关关系,提示在食管癌中 MTA1 表达的上调激活了 USP22 基因,使 USP22 蛋白高表达; USP22 和 Ki-67 相互作用,共同促进细胞增殖,加速肿瘤形成。

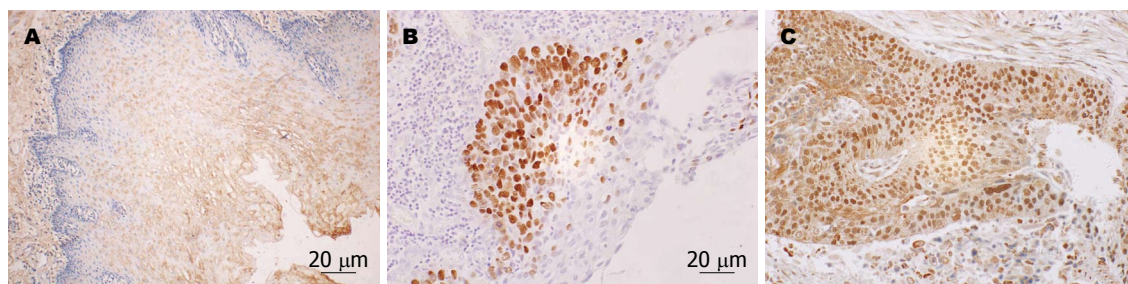


图 2 3种组织中MTA1蛋白的表达. A: MTA1在正常组织中的阴性表达(SP×200); B: MTA1在癌旁组织中的阳性表达(SP×400); C: MTA1在食管鳞癌组织中的强阳性表达(SP×400). MTA1: 转移相关基因1.

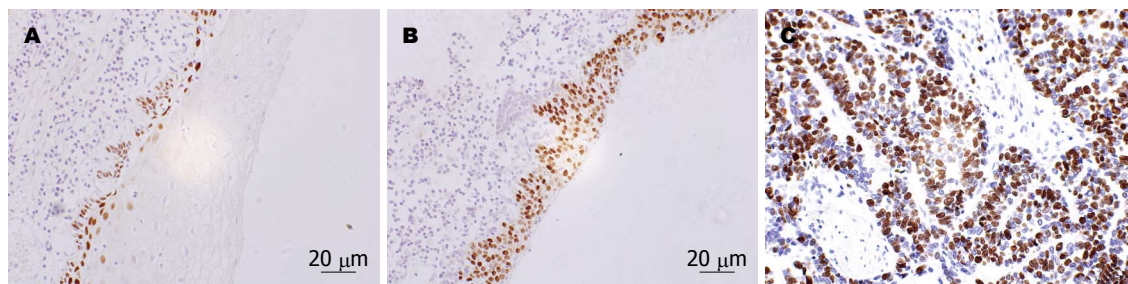


图 3 3种组织中Ki-67蛋白的表达. A: Ki-67在正常组织中的阴性表达(SP×400); B: Ki-67在癌旁组织中的阳性表达(SP×400); C: Ki-67在食管鳞癌中的强阳性表达(SP×400). Ki-67: 细胞增殖核抗原.

表 2 USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达与食管鳞癌临床病理参数之间的关系

分组	n	USP22蛋白				MTA1蛋白				Ki-67蛋白			
		-	+	(%)	P值	-	+	(%)	P值	-	+	(%)	P值
年龄					0.517				0.353				0.741
≤60	22	8	14	63.64		10	12	54.55		7	15	68.18	
>60	22	6	16	72.73		7	15	68.18		6	16	72.73	
性别					0.786				0.718				0.488
男	27	9	18	66.67		11	16	59.26		9	18	66.67	
女	17	5	12	70.59		6	11	64.71		4	13	76.47	
淋巴结转移					0.181				0.004				0.024
无	19	4	15	78.95		12	7	36.84		9	10	52.63	
有	25	10	15	60.00		5	20	80.00		4	21	84.00	
肿瘤浸润深度					0.005				0.016				0.012
浸润全层	23	3	20	86.96		5	18	78.26		3	20	86.96	
未浸润全层	21	11	10	47.62		12	9	42.86		10	11	52.38	
组织学分级					0.019				0.013				0.043
I/II级	15	13	2	13.33		10	5	33.33		8	7	46.67	
II级	15	9	6	40.00		5	10	66.67		3	12	80.00	
III/II-III级	14	5	9	64.29 ^a		2	12	85.71 ^a		2	12	85.71 ^a	

^aP<0.05 vs I/II级组; USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原.

组织学分级有关,而与年龄、性别无关.

2.3 食管鳞癌组织中USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性 食管鳞癌组织中USP22与MTA1蛋白, USP22与Ki-67蛋白表达均呈正相关, $P<0.05$; MTA1与Ki-67蛋白表达无相关性, $P>0.05$ (表3).

3 讨论

食管癌的发生发展是一个由多种因素参与调控的过程,有多种基因参与肿瘤细胞的增殖、分化及凋亡.自2008年以来,国际权威杂志不断发表有关USP22的研究文章,报道USP22与人转录复合物SAGA(human Spt-Ada-Gcn5-acet-

表 3 USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性分析

USP22	MTA1		总计	USP22	Ki-67		总计	MTA1	Ki-67		总计
	-	+			-	+			-	+	
-	12	2	14		9	5	14		5	12	17
+	5	25	30		4	26	30		8	19	27
总计	17	27	44		13	31	44		13	31	44
P值	0.017				0.002				0.988		
r值	0.320				0.520						

USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原。

yltransferase)的亚单位结合,促使SAGA乙酰化染色体上的组蛋白(H2A、H2B),激活基因的转录,促进细胞由G₁/S、G₂/M期过渡,促使肿瘤发生、发展及转移^[13]。USP22促进多种肿瘤细胞增殖^[14-16]。Lv等^[17]通过沉默USP22基因,下调了USP22的表达,使细胞停留在G₁期,抑制了膀胱癌细胞的增殖。降低USP22基因的表达水平,可抑制胃癌AGS细胞增殖,阻滞细胞周期^[18]。USP22异常高表达使肿瘤细胞增殖调控受到影响,从而导致肿瘤异常增殖^[19]。本实验结果提示,USP22在正常组织、癌旁组织及食管癌组织中阳性表达率逐渐增加,差异有显著的统计学意义,并且与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度有关,与淋巴结转移无关。本实验检测结果III/II-III级组USP22的表达率高于I/I-II级组,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.985, P = 0.005$),而I/I-II级组与II级组、II级组与III/II-III级组间USP22蛋白阳性表达率差异无统计学意义,可能是由于每组样本量不足的原因,还需要我们更进一步的探究。本实验研究提示USP22蛋白的高表达是食管癌发生的机制之一。

核糖体是染色质的结构单位,MTA1被认为是核小体重构及组蛋白脱乙酰基酶复合物的一个亚单位^[20]。乙酰化可以减少基因组DNA与组蛋白的结合,使染色质结构松散,有利于DNA的转录。Hofer等^[21]研究发现MTA1可以改变细胞内角蛋白丝系统的装配及细胞骨架蛋白的定位,细胞获得具有转移性和侵袭性的表面粘附分子,通过相关信号转导,调控一系列与肿瘤浸润、转移有关蛋白的表达,使细胞之间粘附力下降,增加细胞的侵袭及转移能力。而具体分子机制目前尚未清楚,还有待于医学界的同胞们进一步探究。有研究报道,MTA1 mRNA相对量及MTA1蛋白的表达在胃癌组织中显著高于正常胃粘膜组织,而伴有淋巴结转移的胃癌中MTA1

mRNA的相对量表达明显高于不伴有淋巴结转移的胃癌组织^[22]。在多种恶性肿瘤组织中MTA1过表达与肿瘤的浸润转移密切相关^[23,24]。在胃肠癌和食管癌中,MTA1的过表达与癌浸润的深度、淋巴转移等恶性表型显著相关^[25]。我们实验结果表明MTA1蛋白在食管癌组织中呈高表达,显著高于癌旁组织及正常组织,差异有统计学意义,MTA1蛋白的表达与性别、年龄无关,与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级呈显著相关性。由此可知,MTA1基因的异常高表达,促使肿瘤细胞的浸润及转移。

目前大多数学者认为,细胞持续增长时,容易形成肿瘤。Ki-67蛋白是一种与细胞增殖特异性相关的核抗原,G₁期开始表达,G₂/M期表达最强,M期后递减,G₀期不表达^[26-28]。多数研究表明,Ki-67表达能可靠而迅速地反映恶性肿瘤增殖率^[29,30]。本实验研究结果表明,Ki-67在食管癌中高表达,与癌旁组织及正常组织间的差异有统计学意义,以胞核染色为主,阳性细胞主要为基底细胞,这种现象提示Ki-67与细胞增殖有关。Ki-67蛋白的表达与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有关,而与性别和年龄无关,与Czyzewska等^[31]研究一致。因此,Ki-67反映细胞的增殖状态,与细胞增殖的维持相关。Ki-67表达的高低对评价肿瘤细胞的增殖状态、研究肿瘤的生物行为具有重要意义。

本研究发现USP22与MTA1、Ki-67蛋白的表达均呈正相关,而MTA1与Ki-67蛋白的表达无相关性。可能提示在食管癌中MTA1表达的上调激活了USP22基因,使USP22蛋白高表达。有关研究报道,USP22在乳腺癌中高表达,其表达与肿瘤细胞增殖的标志Ki-67表达呈正相关^[32]。USP22和Ki-67两者可能相互作用,共同促进细胞增殖。在本实验结果中,MTA1与Ki-67蛋白的表达无相关性($P = 0.988$),需进一步实验探讨两

应用要点

本研究发现,USP22与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度有关,MTA1及Ki-67与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度、淋巴结转移有关;USP22与MTA1、Ki-67表达呈正相关;联合使用免疫组织化学进行检测,可考虑作为食管癌早期诊断及评价肿瘤生物学行为的重要指标。

同行评价

本文探讨USP22、MTA1及Ki-67蛋白在人食管鳞癌组织中的表达、与肿瘤生物学行为的关系及三者之间的相关性, 立意较新颖。

者之间有无相互作用。在食管癌的发生发展中, USP22、MTA1及Ki-67可作为食管癌潜在的分子标记物, 对食管癌患者的早期诊断及分子靶向治疗具有推动作用, 联合检测可以更准确地判断食管癌的生物学行为, 指导临床工作。

参考文献

- Yu R, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene: an update. *Front Horm Res* 2004; 32: 175-185 [PMID: 15281346]
- Chen L, Puri R, Lefkowitz EJ, Kakar SS. Identification of the human pituitary tumor transforming gene (hPTTG) family: molecular structure, expression, and chromosomal localization. *Gene* 2000; 248: 41-50 [PMID: 10806349]
- Zhao Y, Lang G, Ito S, Bonnet J, Metzger E, Sawatsubashi S, Suzuki E, Le Guezennec X, Stunnenberg HG, Krasnov A, Georgieva SG, Schüle R, Takeyama K, Kato S, Tora L, Devys D. A TPTC/STAGA module mediates histone H2A and H2B deubiquitination, coactivates nuclear receptors, and counteracts heterochromatin silencing. *Mol Cell* 2008; 29: 92-101 [PMID: 18206972 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.12.011]
- Shabek N, Ciechanover A. Degradation of ubiquitin: the fate of the cellular reaper. *Cell Cycle* 2010; 9: 523-530 [PMID: 20107325]
- Lee HJ, Kim MS, Shin JM, Park TJ, Chung HM, Baek KH. The expression patterns of deubiquitinating enzymes, USP22 and Usp22. *Gene Expr Patterns* 2006; 6: 277-284 [PMID: 16378762]
- Zhang XY, Varthi M, Sykes SM, Phillips C, Warzecha C, Zhu W, Wyce A, Thorne AW, Berger SL, McMahon SB. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell-cycle progression. *Mol Cell* 2008; 29: 102-111 [PMID: 18206973 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.12.015]
- Atanassov BS, Evrard YA, Multani AS, Zhang Z, Tora L, Devys D, Chang S, Dent SY. Gcn5 and SAGA regulate shelterin protein turnover and telomere maintenance. *Mol Cell* 2009; 35: 352-364 [PMID: 19683498 DOI: 10.1016/j.molcel.2009.06.015]
- Pencil SD, Toh Y, Nicolson GL. Candidate metastasis-associated genes of the rat 13762NF mammary adenocarcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 25: 165-174 [PMID: 8347848 DOI: 10.1007/BF00662141]
- Cui Q, Takiguchi S, Matsusue K, Toh Y, Yoshida MA. Assignment of the human metastasis-associated gene 1 (MTA1) to human chromosome band 14q32.3 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 93: 139-140 [PMID: 11474200 DOI: 10.1159/000056969]
- 李斌, 陈武科, 陈鹏, 廖和和. 乳腺癌中MTA1、MMP-9 mRNA表达与临床病理研究. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 1867-1871
- Scholz T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322 [PMID: 10653597]
- 蔡敏, 孔香云, 王研, 刘志艳, 周志强, 马榕, 张庆慧. 乳腺分叶状肿瘤EGFR、Ki-67的表达和意义. *中国现代普通外科进展* 2007; 10: 247-250
- Zhang XY, Pfeiffer HK, Thorne AW, McMahon SB. USP22, an hSAGA subunit and potential cancer stem cell marker, reverses the polycomb-catalyzed ubiquitylation of histone H2A. *Cell Cycle* 2008; 7: 1522-1524 [PMID: 18469533]
- Liu YL, Yang YM, Xu H, Dong XS. Aberrant expression of USP22 is associated with liver metastasis and poor prognosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2011; 103: 283-289 [PMID: 21337558 DOI: 10.1002/jso.21802]
- 熊建军, 干丽君, 林玲, 龚帆, 吴周环, 李卫东. 泛素特异性水解酶ZZ基因RNA干扰真核表达载体的构建及鉴定. *四川大学学报(医学版)* 2011; 42: 166-169
- Luo Y, Zeng FQ, Gu ZH, Wang L, Wang ZY, Jiang GS, Xiao XY. Quantitative analysis of the putative cancer stem cell marker USP22 mRNA in the transitional cell carcinoma of the bladder and the relationship between USP22 and the grading of tumor. *J Clin Urol* 2009; 24: 140-144 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1420.2009.02.022]
- Lv L, Xiao XY, Gu ZH, Zeng FQ, Huang LQ, Jiang GS. Silencing USP22 by asymmetric structure of interfering RNA inhibits proliferation and induces cell cycle arrest in bladder cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2011; 346: 11-21 [PMID: 20824490 DOI: 10.1007/s11010-010-0585-4]
- 邓美洲, 陶凯雄, 王国斌, 刘兴华. SiRNA沉默USP22基因对胃癌细胞增殖的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1985-1989
- 邓美洲, 陶开雄, 王国斌, 刘兴华. 泛素特异性肽酶22在胃癌中的表达及其临床意义. *腹部外科* 2011; 24: 302-303
- Xue Y, Wong J, Moreno GT, Young MK, Côté J, Wang W. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell* 1998; 2: 851-861 [PMID: 9885572]
- Hofer MD, Menke A, Genze F, Gierschik P, Giehl K. Expression of MTA1 promotes motility and invasiveness of PANC-1 pancreatic carcinoma cells. *Br J Cancer* 2004; 90: 455-462 [PMID: 14735193]
- 刘海, 胡俊波, 王志强, 卫子然. MTA1基因表达与人胃癌的浸润和转移. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3317-3320
- Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, Kobayashi Y, Yukiue H, Kaji M, Fukai I, Kiriya M, Yamakawa Y, Fujii Y. Expression of the MTA1 mRNA in advanced lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 35: 149-154 [PMID: 11804687]
- Hofer MD, Kuefer R, Varambally S, Li H, Ma J, Shapiro GI, Gschwend JE, Hautmann RE, Sanda MG, Giehl K, Menke A, Chinnaiyan AM, Rubin MA. The role of metastasis-associated protein 1 in prostate cancer progression. *Cancer Res* 2004; 64: 825-829 [PMID: 14871807]
- Toh Y, Ohga T, Endo K, Adachi E, Kusumoto H, Haraguchi M, Okamura T, Nicolson GL. Expression of the metastasis-associated MTA1 protein and its relationship to deacetylation of the histone H4 in esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 2004; 110: 362-367 [PMID: 15095300]
- Nicolini A, Carpi A, Tarro G. Biomolecular markers of breast cancer. *Front Biosci* 2006; 11: 1818-1843 [PMID: 16368559]
- 樊素珍, 苑中甫. 宫颈组织中Annexin A2和Ki-67蛋白的表达. *郑州大学学报(医学版)* 2010; 45: 81-84
- 南燕, 李红雨, 许雅娟. 宫颈癌组织中TSPAN-1与Ki-67蛋白的表达. *郑州大学学报(医学版)* 2010; 45: 469-471
- Mullerat J, Deroide F, Winslet MC, Perrett CW. Pro-

- liferation and p53 expression in anal cancer precursor lesions. *Anticancer Res* 2003; 23: 2995-2999 [PMID: 12926152]
- 30 Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Ide C, Coche E, Weynand B, Desuter G, Hamoir M, Remacle M, Marbaix E. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head Neck* 2003; 25: 280-288 [PMID: 12658732]
- 31 Czyzewska J, Guzińska-Ustymowicz K, Lebelt A, Zalewski B, Kemona A. Evaluation of proliferating markers Ki-67, PCNA in gastric cancers. *Rocz Akad Med Białymst* 2004; 49 Suppl 1: 64-66 [PMID: 15638377]
- 32 Zhang Y, Yao L, Zhang X, Ji H, Wang L, Sun S, Pang D. Elevated expression of USP22 in correlation with poor prognosis in patients with invasive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1245-1253 [PMID: 21691749 DOI: 10.1007/s00432-011-0998-9]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制

张红梅, 张小茜, 仲 华, 张 娜, 李 蕾, 季万胜

■背景资料

p53基因是迄今为止与人类肿瘤相关性最高的基因,被认为是一种抑癌基因,但研究表明中国胃癌p53的突变率仅为30.6%提示部分胃癌的发生并没有伴随着p53的高突变率。

张红梅, 张小茜, 仲华, 李蕾, 季万胜, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261031

张娜, 潍坊医学院 山东省潍坊市 261053

张红梅, 副主任医师, 主要从事胃癌及癌前疾病的研究。

山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目, No. BS2010SW034

作者贡献分布: 本课题由季万胜与张红梅设计; 研究过程由张红梅、张小茜、仲华、张娜、李蕾及季万胜共同完成; 数据分析由张红梅与张娜完成; 本论文写作由张红梅与张小茜完成。

通讯作者: 季万胜, 副教授, 261031, 山东省潍坊市奎文区465号, 潍坊医学院附属医院消化内科, jiwsh@wfmcc.edu.cn

电话: 0536-8068912

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-08-28

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer

Hong-Mei Zhang, Xiao-Qian Zhang, Hua Zhong, Na Zhang, Lei Li, Wan-Sheng Ji

Hong-Mei Zhang, Xiao-Qian Zhang, Hua Zhong, Lei Li, Wan-Sheng Ji, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261031, Shandong Province, China

Na Zhang, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Correspondence to: Wan-Sheng Ji, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, 456 Kuiwen District, Weifang 261031, Shandong Province, China. jiwsh@wfmcc.edu.cn

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-08-28

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the relevance of p53 isoforms in the genesis and development of gastric cancer and to explore possible mechanisms involved.

METHODS: Ninety specimens of gastric cancer, atrophic gastritis and normal gastric mucosa were gathered. The expression of p53 splice variants (p53 β , Δ 133p53), PTEN, Bax, and p21waf1/cip1 in the above specimens was detected by nested reverse transcription-polymerase chain reaction (NT-PCR) and immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rate of p53 β expression was significantly lower in gastric cancer and atrophic gastritis than in normal gastric mucosa (26.7%, 33.3% vs 70.0%, both $P < 0.01$). The posi-

tive rate of Δ 133p53 expression was 70.0% in gastric cancer, 50.0% in atrophic gastritis, and 23.3% in normal gastric mucosa, which was significantly higher in gastric cancer than in normal gastric mucosa ($P < 0.01$). The positive rate of PTEN expression was 53.3% in gastric cancer, 76.7% in atrophic gastritis, and 86.7% in normal gastric mucosa, and the corresponding percentages were 36.7%, 73.3% and 83.3% for Bax, and 46.7%, 50.0% and 86.7% for p21waf1/cip1. The positive rates of PTEN, Bax and p21waf1/cip1 expression were significantly lower in gastric cancer than in normal gastric mucosa (all $P < 0.05$). There were positive correlations between the expression of p53 β and PTEN, p53 β and Bax, p53 β and p21waf1/cip1, and negative correlations between the expression of Δ 133p53 and PTEN, Δ 133p53 and Bax, Δ 133p53 and p21waf1/cip1 in gastric cancer (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Differential expression of p53 β and Δ 133p53 in gastric cancer may suppress the activity of p53 by regulating Bax, p21waf1/cip1 and PTEN and thereby affect the genesis and development of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: p53 isoforms; p53 β ; Δ 133p53; PTEN; Bax gene; p21waf1/cip1 gene; Gastric cancer

Zhang HM, Zhang XQ, Zhong H, Zhang N, Li L, Ji WS. Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2922-2928 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2922.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2922>

摘要

目的: 探讨p53异构体与胃癌发生、发展中的相关性及其机制。

方法: 收集胃癌、萎缩性胃炎、正常胃黏膜组织各30例,应用NT-PCR法及免疫组织化学方法检测3组中的p53异构体p53 β 、 Δ 133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1基因的表达情况,并进行统计学分析。

■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

结果: p53 β 在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为26.7%、33.3%和70.0%, 胃癌组织p53 β 的表达明显低于正常胃组织($P<0.01$); $\Delta 133p53$ 在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为70.0%、50.0%、23.3%, 胃癌组织 $\Delta 133p53$ 的表达明显高于正常胃组织($P<0.01$); PTEN在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为53.3%、76.7%、86.7%; Bax在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为36.7%、73.3%、83.3%; p21waf1/cip1在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为46.7%、50.0%、86.7%, 胃癌组织中PTEN、Bax及p21waf1/cip1的表达均明显低于正常胃组织($P<0.05$). p53 β 和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系, 而 $\Delta 133p53$ 和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系($P<0.05$).

结论: p53异构体p53 β 、 $\Delta 133p53$ 在胃癌中的差异性表达, 可能通过调控Bax、p21waf1/cip1及PTEN等下游基因而抑制p53的活性, 对胃癌的发生发展产生了重要作用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: P53异构体; P53 β ; $\Delta 133p53$; 同源丢失性磷酸酶张力蛋白; Bax基因; p21waf1/cip1基因; 胃癌

核心提示: p53异构体p53 β 、 $\Delta 133p53$ 在胃癌中的差异性表达, 通过下调Bax、p21waf1/cip1及PTEN等下游基因的生物学活性, 从而抑制了p53的活性, 对胃癌的发生发展起了重要的作用.

张红梅, 张小茜, 仲华, 张娜, 李蕾, 季万胜. p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2922-2928 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2922.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2922>

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率均是世界平均水平的两倍多, 但其病因目前尚不清楚, 人们对胃癌的发病机制始终处于不断的研究探索之中. p53基因是迄今为止与人类肿瘤相关性最高的基因, 被认识为一种抑癌基因, 但最近的研究表明, 中国胃癌p53的突变率仅为30.6%^[1], 提示部分胃癌的发生并没有伴随着p53的高突变率. 近几年来研究发现, 不同的p53剪接异构体作为一种转录因子

可以调节p53的转录活性, 进而引发一系列的生物学反应, 对肿瘤的发生、发展发挥重要作用. 探讨p53异构体对野生型p53基因转录的影响以及对p53下游效应基因的影响, 都有可能发现胃癌发生的新机制. 本研究通过检测胃癌、萎缩性胃炎、正常胃组织中的p53异构体p53 β 、 $\Delta 133p53$ 和同源丢失性磷酸酶张力蛋白PTEN、Bax(Bcl-2-associated X protein)、p21waf1/cip1基因的表达情况, 探讨p53异构体在胃癌发生、发展中的作用及他们之间的相互关系, 为研究胃癌的发生机制进一步提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10-08/2012-08-21就诊于潍坊医学院附属医院的患者90例, 其中胃癌手术切除标本21例, 胃镜下胃癌活检组织标本9例, 胃镜下慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)活检组织标本30例, 胃镜下正常黏膜组织活检标本30例. 男性56例、女性34例, 年龄在23-81岁之间, 平均年龄47.3岁, 中位年龄48岁. 所有标本均经病理学确诊, 入选患者均无长期糖皮质激素及非甾体抗炎药服用史, 标本采集前均未接受任何放化疗.

1.2 方法 采用巢式逆转录多聚酶链反应法检测胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中p53 β 和 $\Delta 133p53$ 的表达情况: 应用UNIQ-10柱式TRIzol总RNA提取试剂盒提取三组胃组织的总RNA. 按照MMLV第一链cDNA合成试剂盒说明书及相关文献操作, 以试剂盒内的Oligo-p(dT)18Primer为随机引物, 以M-MuLV RT酶为逆转录酶进行体外逆转录反应. 对胃组织中p53 β 、 $\Delta 133p53$ 二种p53异构体PCR扩增, 引物序列如下: p53 β 外引物, 正向: 5'-GTC ACT GCC ATG GAG GAG CCG CA-3', 反向: 5'-GAC GCA CAC CTA TTG CAA GCA AGG GTT C-3'; p53 β 内引物, 正向: 5'-ATG GAG GAG CCG CAGTCA GAT-3', 反向: 5'-TTT GAA AGC TGG TCT GGT CCT GA-3'; $\Delta 133p53$ 外引物, 正向: 5'-CTG AGG TGT AGA CGC CAA CTC TCT CTA G-3', 反向: 5'-AGT CAG TCT GAG TCA GGC CCT TCT GTC-3'; $\Delta 133p53$ 内引物, 正向: 5'-GCT AGT GGG TTG CAG GAG GTG CTT ACA C-3', 反向: 5'-CTC ACG CCC ACG GAT CTG A-3'. PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳后, 将凝胶放入Bio-Spectrum AC凝胶成像系统扫描并拍照, 并对电泳结果进行判定. 总RNA提取试剂盒、cDNA合

■ 研发前沿

近几年来研究发现, 不同的p53剪接异构体作为一种转录因子可以调节p53的转录活性, 进而引发一系列的生物学反应, 对肿瘤的发生、发展发挥重要作用. 探讨p53异构体对野生型p53基因转录的影响以及对p53下游效应基因的影响, 都有可能发现胃癌发生的新机制.

■ 相关报道

多项研究发现, 肿瘤组织中p53 β 经常表达缺失, 而 Δ 133p53常过表达, 二者在肿瘤的发生发展中起了重要作用, Hofstetter等研究证明 Δ 133p53可以作为发生p53突变的进展期卵巢癌患者的一项独立预后因子. 近期研究还显示 Δ 133p53 α 能够刺激肿瘤的血管形成和进一步发展.

表 1 不同胃组织中p53 β 、 Δ 133p53表达率比较 ($n = 30$)

分组	+	-	p53 β 阳性率(%)	χ^2	P值	+	-	Δ 133p53阳性率(%)	χ^2	P值
胃癌	8	22	26.7	11.38	0.001	21	9	70.0	13.13	0.000
慢性萎缩性胃炎	9	21	33.3			15	15	50.0		
正常胃黏膜组织	21	9	70.0			7	23	23.3		

表 2 不同胃组织中PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达率比较 ($n = 30$)

分组	PTEN阳性率(%)	χ^2	P值	Bax阳性率(%)	χ^2	P值	p21waf1/cip1阳性率(%)	χ^2	P值
胃癌	53.3	7.937	0.005	36.7	15.808	0.000	46.7	10.800	0.001
慢性萎缩性胃炎	76.7			73.3			50.0		
正常胃黏膜组织	86.7			83.3			86.7		

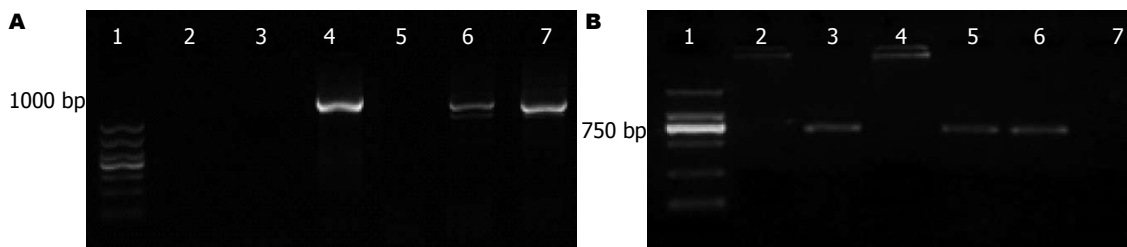


图 1 p53 β 与 Δ 133p53的电泳结果. A: p53 β , 扩增片段大小为1050 bp; B: Δ 133p53, 扩增片段大小为750 bp. 1: DNA Marker; 2, 5: 胃癌组织; 3, 6: 萎缩性胃炎组织; 4, 7: 正常胃黏膜组织.

成试剂盒、PCR扩增试剂盒、引物购自Sangon上海生工, BIO-RAD MyCyder PCR仪购自美国伯乐公司, BioSpectrum AC凝胶成像系统购自美国UVP公司.

采用免疫组织化学P.V-9000两步法检测胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中PTEN、Bax及p21waf1/cip1的表达情况: 标本经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 常规HE染色, 病理确诊, 免疫组织化学步骤按说明书进行. 每张切片随机选择5个视野, 共计数100个细胞, 分别计算3种抗体的阳性细胞百分率. 由两位以上病理医生对免疫组织化学染色进行评价, 分为两级, 阴性; 无染色或染色阳性细胞数占总细胞数 $\leq 10\%$, 阳性; 染色阳性细胞数占总细胞数 $> 10\%$. 鼠抗人PTEN、Bax和p21waf1/cip1单克隆抗体均购自北京中杉金桥, 以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理, 计数资料采用 χ^2 检验, 数据的相关性采用Spearman秩相关分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 p53 β 、 Δ 133p53在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达 p53 β 在30例胃癌

组织中有8例表达, 占26.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有9例表达, 占33.3%, 在30例正常胃组织中有21例表达, 占70.0%, 胃癌组织p53 β 的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$). Δ 133p53在30例胃癌组织中有21例表达, 占70.0%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有15例表达, 占50.0%, 在30例正常胃组织中有7例表达, 占23.3%, 胃癌组织 Δ 133p53的表达明显高于正常胃组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (表1, 图1).

2.2 PTEN、Bax及p21waf1/cip1在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达 PTEN在30例胃癌组织中有16例表达, 占53.3%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有23例表达, 占76.7%, 在30例正常胃组织中有26例表达, 占86.7%, 胃癌组织PTEN的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$). Bax在30例胃癌组织中有11例表达, 占36.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有22例表达, 占73.3%, 在30例正常胃组织中有25例表达, 占83.3%, 胃癌组织Bax的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). p21waf1/cip1在30例胃癌组织中有14例表达, 占46.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有15例表达, 占50.0%, 在30例正常胃组织中有26例表达, 占

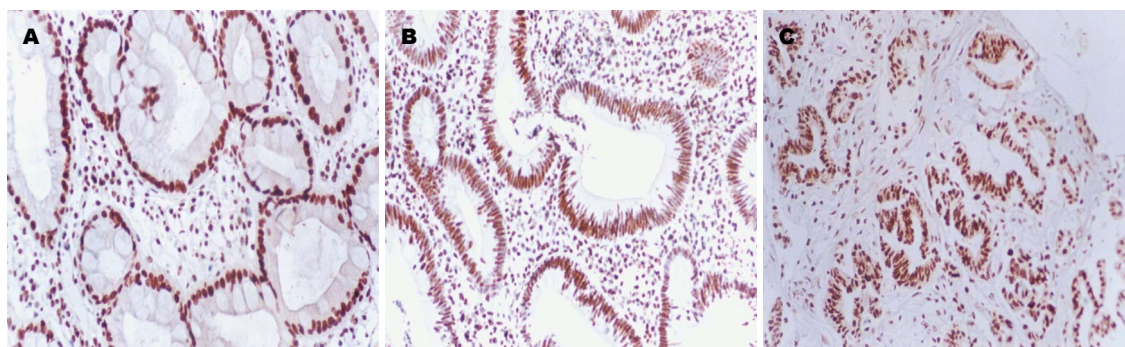


图 2 PTEN在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: PTEN在正常胃黏膜中阳性表达; B: PTEN在萎缩性胃炎中阳性表达; C: PTEN在胃癌组织阳性表达.

■创新盘点

不同的p53剪接异构体作为一种转录因子可以调节p53的转录活性,进而引发一系列的生物学反应,对肿瘤的发生、发展发挥重要作用.探讨p53异构体对野生型p53基因转录的影响以及对p53下游效应基因的影响,都有可能发现胃癌发生的新机制.

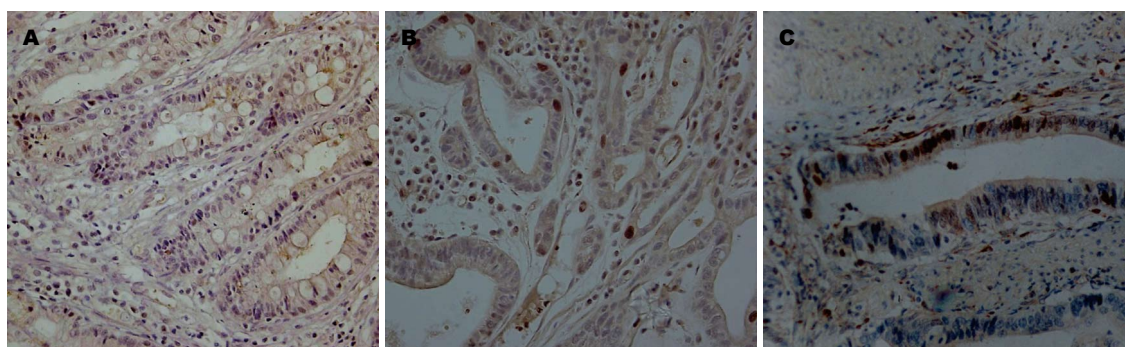


图 3 Bax在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: Bax在正常胃黏膜中弱阳性表达; B: Bax在萎缩性胃炎中阳性表达; C: Bax在胃癌组织中阳性表达.

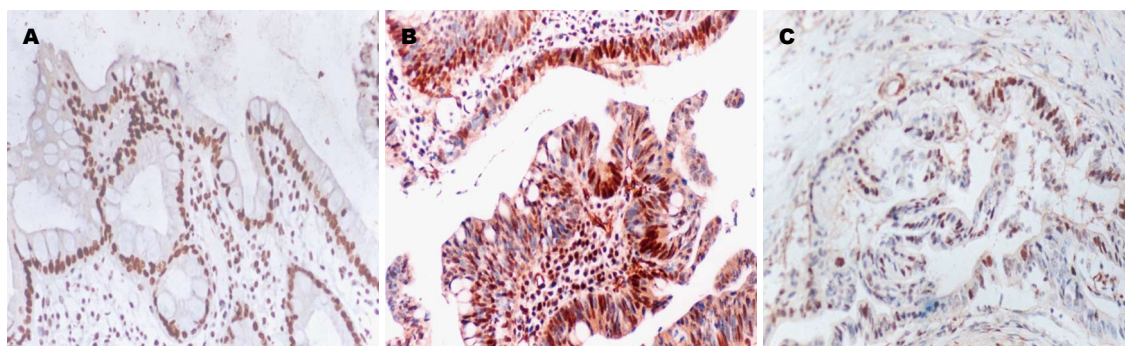


图 4 p21waf1/cip1在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: p21waf1/cip1在正常胃黏膜中阳性表达; B: p21waf1/cip1在萎缩性胃炎中阳性表达; C: p21waf1/cip1在胃癌组织中阳性表达.

86.7%, 胃癌组织p21waf1/cip1的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2, 图2-4).

2.3 p53 β 、 Δ 133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析 Spearman秩相关分析显示, p53 β 和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系($r = 0.413, P = 0.023, r = 0.480, P = 0.007, r = 0.494, P = 0.006$); Δ 133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系($r = -0.467, P = 0.009, r = -0.408, P = 0.025, r = -0.554, P = 0.001$)(表3, 4).

3 讨论

p53基因是到目前为止在人类肿瘤的成因中占有重要作用的基因之一, p53在调节细胞的生长发育周期、DNA的损伤后修复、细胞的凋亡死亡等各个方面起着至关重要的作用^[2-4]. p53剪接异构体是指p53 mRNA前体通过选择不同的剪接位点组合产生不同的mRNA剪接变体, 进而表达多种具有不同生物学功能的蛋白质^[5]. 目前已发现p53至少存在12种不同的剪接异构体^[6,7]. p53剪接异构体能够在人类多种不同类型的肿瘤组织中表达, 他的表达可能和很多肿瘤的发

■应用要点

本研究通过检测胃癌、萎缩性胃炎、正常胃组织中的p53异构体p53 β 、 Δ 133p53和同源丢失性磷酸酶张力蛋白PTEN、Bax、p21waf1/cip1基因的表达情况,探讨p53异构体在胃癌发生、发展中的作用及他们之间的相互关系,为研究胃癌的发生机制进一步提供理论依据。

表 3 胃癌组织中p53 β 与PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析 (*n*)

p53 β	<i>n</i>	PTEN		<i>r</i>	<i>P</i> 值	Bax		<i>r</i>	<i>P</i> 值	p21waf1/cip1		<i>r</i>	<i>P</i> 值
		+	-			+	-			+	-		
+	8	7	1	0.413	0.023	6	2	0.480	0.007	7	1	0.494	0.006
-	22	9	13			5	17			7	15		

表 4 胃癌组织中 Δ 133p53与PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析

Δ 133p53	<i>n</i>	PTEN		<i>r</i>	<i>P</i> 值	Bax		<i>r</i>	<i>P</i> 值	p21waf1/cip1		<i>r</i>	<i>P</i> 值
		+	-			+	-			+	-		
+	21	8	13	-0.467	0.009	5	16	-0.408	0.025	6	15	-0.554	0.001
-	9	8	1			6	3			8	1		

生、发展密切相关^[8-12]。近年来有关p53剪接异构体和人类肿瘤关系的研究不断增多,但是关于各个异构体的生物学功能、异构体之间的联系以及他们与野生型p53之间的作用机制目前尚不完全清楚。孙华银等^[13]应用p53缺失型1299细胞和 Δ 133p53 1299细胞为模型,发现 Δ 133p53在内质网应激条件下,促进了内质网应激诱导的细胞凋亡,提示 Δ 133p53保留了p53促进细胞凋亡的功能。多项研究发现,肿瘤组织中p53 β 经常表达缺失,而 Δ 133p53常过表达,二者在肿瘤的发生发展中起了重要作用^[14-16]。Hofstetter等^[17]研究证明 Δ 133p53可以作为发生p53突变的进展期卵巢癌患者的一项独立预后因子。近期研究还显示 Δ 133p53 α 能够刺激肿瘤的血管形成和进一步发展^[12]。研究发现, p53 β 在肾癌组织中过表达,且p53 β mRNA水平与肿瘤的分期密切相关^[18]。另外, p53 β 的表达水平还与卵巢癌的分化程度相关,其表达预示着更差的无瘤生存^[19]。已经有报道证实,在头颈部鳞癌中存在着频繁的p53 β 缺失^[20]。Anensen等^[21]的研究结果表明p53 β 是p53肿瘤抑制活性的调节因子,能够增强p53的转录活性,进一步转录激活某些凋亡基因,以此来调节细胞命运的转归。本研究发现,在胃癌组织中 Δ 133p53 mRNA水平较正常胃黏膜组织明显升高,并在正常胃组织、萎缩性胃炎、胃癌3组中呈上升趋势,而p53 β mRNA水平的变化却完全相反,这表明p53 β 和 Δ 133p53在胃癌的发生、发展中可能发挥了重要作用。

贾海江等^[22]研究证实, PTEN蛋白的表达与胃癌浸润深度、有无淋巴结转移相关,且阳性表达患者的术后5年生存率高于阴性者。有研究发现,在p53发生突变的肿瘤中, PTEN的表达与

患者的生存期相关^[23]。Lin等^[24]研究发现p53突变对神经胶质瘤细胞增殖的调节作用是通过糖原合成酶激酶-3/PTEN信号通路来完成的。古吉敏等^[25]利用免疫组织化学法证实胃癌中p53的表达较胃炎组织明显升高,而PTEN表达下降,并提示突变型p53蛋白表达升高可能阻碍PTEN蛋白的表达。欧阳艳红研究^[26]发现子宫内膜癌和正常子宫内膜的PTEN蛋白表达缺失率和p53蛋白阳性表达率均有显著性差异。但孙晓春^[27]报道p53和PTEN在胃癌中的表达无明显相关性。Bax基因是近年来新发现的一种凋亡促进基因。吴军等^[28]利用免疫组织化学法检测100例胃癌和20例胃炎组织中的Bax表达,发现胃癌组的Bax阳性表达率明显低于胃炎组。朱亚杰等^[29]研究证实, p21waf1/cip1在胃癌旁组织中的表达明显高于胃癌组织,且随着肿瘤TNM分期的增高有表达降低的趋势。黄荣等^[30]通过检测胃癌组织中p53和p21waf1/cip1蛋白的表达情况,发现p53蛋白高表达而p21waf1/cip1呈低表达,且两者的表达呈负相关。Bourdon等^[14]研究表明, p53 β 优先同Bax和p21waf1/cip1启动子结合,而不是MDM2启动子, p53 β 能够通过Bax启动子干涉p53的转录活性。Marcel等^[4]通过荧光素酶实验研究结果表明,共转染 Δ 133p53和FLp53异构体之后,他们通过作用于p21waf1/cip1和Bax启动子,抑制了p53的转录表达。以上研究表明了p53基因的生物学功能与PTEN、Bax、p21waf1/cip1有密切的相关性,但以研究突变型p53为主。本研究证实,胃癌组织中PTEN、Bax及p21waf1/cip1基因的表达均明显低于正常胃组织, p53 β 和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系,而 Δ 133p53和PTEN、Bax、

p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系, 提示可能正是p53异构体的这种差异性表达, 通过下调*Bax*、*p21waf1/cip1*及*PTEN*等下游基因的生物活性, 从而抑制了p53的活性, 并能参与调节细胞的某些生命过程, 对胃癌的发生发展起了重要的作用。

4 参考文献

- 1 张良军, 夏黎明. p53基因突变与胃癌关系的研究现状. 中华现代临床学杂志 2008; 6: 491-493
- 2 Ghosh A, Stewart D, Matlaszewski G. Regulation of human p53 activity and cell localization by alternative splicing. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 7987-7997 [PMID: 15340061]
- 3 Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. *Lancet Oncol* 2009; 10: 913-919 [PMID: 19717093 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70198-6]
- 4 Marcel V, Hainaut P. p53 isoforms - a conspiracy to kidnap p53 tumor suppressor activity? *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 391-406 [PMID: 18854945 DOI: 10.1007/s00018-008-8336-3]
- 5 Marcel V, Dichtel-Danjoy ML, Sagne C, Hafsi H, Ma D, Ortiz-Cuaran S, Olivier M, Hall J, Mollereau B, Hainaut P, Bourdon JC. Biological functions of p53 isoforms through evolution: lessons from animal and cellular models. *Cell Death Differ* 2011; 18: 1815-1824 [PMID: 21941372 DOI: 10.1038/cdd.2011.120]
- 6 Khoury MP, Bourdon JC. The isoforms of the p53 protein. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a000927 [PMID: 20300206 DOI: 10.1101/cshperspect.a000927]
- 7 Marcel V, Perrier S, Aoubala M, Ageorges S, Groves MJ, Diot A, Fernandes K, Tauro S, Bourdon JC. $\Delta 160$ p53 is a novel N-terminal p53 isoform encoded by $\Delta 133$ p53 transcript. *FEBS Lett* 2010; 584: 4463-4468 [PMID: 20937277 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.10.005]
- 8 van den Berg L, Segun AD, Mersch S, Blasberg N, Grinstein E, Wai D, Anlauf M, Gabbert HE, Mahotka C, Heikau S. Regulation of p53 isoform expression in renal cell carcinoma. *Front Biosci (Elite Ed)* 2010; 2: 1042-1053 [PMID: 20515774]
- 9 Wei J, Zaika E, Zaika A. p53 Family: Role of Protein Isoforms in Human Cancer. *J Nucleic Acids* 2012; 2012: 687359 [PMID: 22007292 DOI: 10.1155/2012/687359]
- 10 Bourdon JC. p53 and its isoforms in cancer. *Br J Cancer* 2007; 97: 277-282 [DOI: 10.1038/sj.bjc.6603886]
- 11 Chambers SK, Martinez JD. The significance of p53 isoform expression in serous ovarian cancer. *Future Oncol* 2012; 8: 683-686 [PMID: 22764765 DOI: 10.2217/fon.12.60]
- 12 Bernard H, Garmy-Susini B, Ainaoui N, Van Den Berghe L, Peurichard A, Javerzat S, Bikfalvi A, Lane DP, Bourdon JC, Prats AC. The p53 isoform, $\Delta 133$ p53 α , stimulates angiogenesis and tumour progression. *Oncogene* 2013; 32: 2150-2160 [PMID: 22733133 DOI: 10.1038/onc.2012.242]
- 13 孙华银, 任锋, 刘凯, 江瑛, 石英, 李莉, 刘秀红, 姜金丽, 段钟平, 陈德喜. $\Delta 133$ p53异构体在内质网应激诱导自噬促进细胞凋亡的机制研究. 北京医学 2011; 33: 953-955
- 14 Bourdon JC, Fernandes K, Murray-Zmijewski F, Liu G, Diot A, Xirodimas DP, Saville MK, Lane DP. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. *Genes Dev* 2005; 19: 2122-2137 [PMID: 16131611]
- 15 Avery-Kiejda KA, Zhang XD, Adams LJ, Scott RJ, Vojtesek B, Lane DP, Hersey P. Small molecular weight variants of p53 are expressed in human melanoma cells and are induced by the DNA-damaging agent cisplatin. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1659-1668 [PMID: 18310316 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1422]
- 16 Candeias MM, Powell DJ, Roubalova E, Apcher S, Bourougaa K, Vojtesek B, Bruzzoni-Giovanelli H, Fähræus R. Expression of p53 and p53/47 are controlled by alternative mechanisms of messenger RNA translation initiation. *Oncogene* 2006; 25: 6936-6947 [PMID: 16983332]
- 17 Hofstetter G, Berger A, Schuster E, Wolf A, Hager G, Vergote I, Cadron I, Sehouli J, Braicu EI, Mahner S, Speiser P, Marth C, Zeimet AG, Ulmer H, Zeillinger R, Concin N. $\Delta 133$ p53 is an independent prognostic marker in p53 mutant advanced serous ovarian cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 1593-1599 [PMID: 22009029 DOI: 10.1038/bjc.2011.433]
- 18 Song W, Huo SW, Lü JJ, Liu Z, Fang XL, Jin XB, Yuan MZ. Expression of p53 isoforms in renal cell carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 921-926 [PMID: 19493415]
- 19 Hofstetter G, Berger A, Fiegl H, Slade N, Zorić A, Holzer B, Schuster E, Mobus VJ, Reimer D, Daxenbichler G, Marth C, Zeimet AG, Concin N, Zeillinger R. Alternative splicing of p53 and p73: the novel p53 splice variant p53delta is an independent prognostic marker in ovarian cancer. *Oncogene* 2010; 29: 1997-2004 [PMID: 20101229 DOI: 10.1038/onc.2009.482]
- 20 Boldrup L, Bourdon JC, Coates PJ, Sjöström B, Nylander K. Expression of p53 isoforms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Cancer* 2007; 43: 617-623 [PMID: 17215121]
- 21 Anensen N, Oyan AM, Bourdon JC, Kalland KH, Bruserud O, Gjertsen BT. A distinct p53 protein isoform signature reflects the onset of induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3985-3992 [PMID: 16818696]
- 22 贾海江, 戴林. p53、PCNA和PTEN在胃癌组织中的表达及其临床意义. 国际消化病杂志 2012; 32: 302-305
- 23 Huang X, Zhang Y, Tang Y, Butler N, Kim J, Guesous F, Schiff D, Mandell J, Abounader R. A Novel PTEN/Mutant p53/c-Myc/Bcl-XL Axis Mediates Context-Dependent Oncogenic Effects of PTEN with Implications for Cancer Prognosis and Therapy. *Neoplasia* 2013; 15: 952-965 [PMID: 23908595]
- 24 Lin C, Liang Y, Zhu H, Zhang J, Zhong X. R280T mutation of p53 gene promotes proliferation of human glioma cells through GSK-3 β /PTEN pathway. *Neurosci Lett* 2012; 529: 60-65 [PMID: 22999923 DOI: 10.1016/j.neulet.2012.09.022]
- 25 古吉敏, 华平, 简友丽. PTEN及p53蛋白在胃癌中的异常表达及临床意义. 肿瘤预防与治疗 2010; 23: 280-282
- 26 欧阳艳红. p53和PTEN在子宫内膜癌的表达及其意义. 西南军医 2010; 12: 421-422
- 27 孙晓春, 孙镇江, 吴乐乐, 谢岩, 朱伟. p53、PTEN和VEGF在胃癌组织中的表达及意义. 山东医药 2012; 52: 18-20
- 28 吴军, 张志广, 李熾, 卢向东, 闻淑军, 齐凤祥. 胃癌组

■同行评价

本文有一定的科学意义和临床应用价值, 课题设计合理, 结论可信, 有一定指导意义。

- 29 织中HIF-1 α 、Bax、Bcl-2的表达及意义. 天津医科大学学报 2010; 16: 226-228
- 朱亚杰, 邱萌, 周继陶, 刘明, 刘素蕊, 黄娟, 毕锋. 胃癌中p53蛋白转录调控活性的分析及其临床意义. 中华

- 30 医学遗传学杂志 2010; 27: 60-65
- 黄荣, 张建兵. 小鼠双倍微体基因、P53及P21在胃癌组织中的表达及临床意义. 南通大学学报(医学版) 2010; 30: 177-179

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊). 根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号.

RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义

赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东

赵艳春, 东南大学医学院 江苏省南京市 210009
赵艳春, 陈旭东, 盐城市第二人民医院消化科 江苏省盐城市 224003
陈洪, 东南大学附属中大医院消化科 江苏省南京市 210009
孙林, 邱梅, 盐城市第二人民医院病理科 江苏省盐城市 224003
赵艳春, 东南大学医学院在职研究生, 目前就职于盐城市第二人民医院消化科, 主要从事消化内科疾病的研究。
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008301
作者贡献分布: 此课题由陈洪、赵艳春及陈旭东设计; 研究过程由赵艳春、孙林及邱梅完成; 数据分析由赵艳春与孙林完成; 研究用材料工具由邱梅与陈旭东提供; 文章由赵艳春撰写; 陈旭东、陈洪审阅论文, 并指导论文修改。
通讯作者: 陈洪, 博士, 副教授, 主任医师, 210009, 江苏省南京市丁家桥87号, 东南大学附属中大医院消化科。
njchenhong66@163.com
电话: 025-83262283
收稿日期: 2013-06-29 修回日期: 2013-07-30
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer

Yan-Chun Zhao, Hong Chen, Lin Sun, Mei Qiu, Xu-Dong Chen

Yan-Chun Zhao, Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Yan-Chun Zhao, Xu-Dong Chen, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224003, Jiangsu Province, China
Hong Chen, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Lin Sun, Mei Qiu, Department of Pathology, the Second People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224003, Jiangsu Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008301
Correspondence to: Hong Chen, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Medical College of Southeast University, 87 Dingjia Qiao, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. njchenhong66@163.com
Received: 2013-06-29 Revised: 2013-07-30
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of Ras pro-

tein activator like 1 (RASAL1) and extracellular regulated protein kinase (ERK) in gastric cancer and to analyze their association with clinicopathological features of gastric cancer.

METHODS: The expression of RASAL1, ERK and phosphorylated ERK (p-ERK) was detected by immunohistochemistry in 60 gastric cancer tissue specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens. The association of RASAL1 and ERK expression with clinicopathologic characteristics of gastric cancer was then analyzed.

RESULTS: RASAL1 expression was weak or undetectable in gastric cancer but strong in tumor-adjacent tissue (mean rank score: 35.84 vs 85.16, $P < 0.01$). No significant difference was observed in ERK expression between gastric cancer and tumor-adjacent tissue (mean rank score: 60.68 vs 60.33, $P > 0.05$). The expression level of p-ERK in gastric cancer was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue (mean rank score: 84.93 vs 36.07, $P < 0.0001$). Besides, decreased expression of RASAL1 and over-activation of ERK were significantly correlated with tumor size, stage, depth of invasion, grade and lymph node metastasis (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Low expression of RASAL1 and high expression of p-ERK may be involved in the development and progression of gastric cancer. RASAL1 promotes gastric cancer occurrence and development possibly by regulating the activation of ERK.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Ras protein activator like 1; Extracellular regulated protein kinase; Immunohistochemistry

Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD. Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013;

■背景资料

胃癌的发生发展涉及到多个基因的改变和多阶段的过程, 但具体发病机制目前尚未完全明确。目前已明确RAS基因家族活性异常增高是人类恶性肿瘤形成的关键因素之一, 围绕RAS基因及其信号传导通路的研究一直是分子肿瘤学的研究热点。Ras蛋白激活物类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)是近年新发现的基因, 研究发现功能失活与部分肿瘤的发生发展有关, 被认为是候选的抑癌基因。

■同行评议者

刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研究前沿

RASAL1基因编码的蛋白属于RAS GAP1家族,可负性调控RAS蛋白的活性,继而参与调控Ras/Raf/MEK/ERK信号通路。目前已有研究发现RASAL1在胃癌组织中表达异常,但其与胃癌组织中Ras/Raf/MEK/ERK信号通路失调的关系尚无确切证据。

21(28): 2929-2936 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929>

摘要

目的: 研究观察胃癌及癌旁组织中Ras蛋白激酶类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)和细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)的表达情况,并分析其与胃癌临床病理特征的关系。

方法: 采用免疫组织化学方法检测60例胃癌组织及其对应癌旁组织中RASAL1、ERK以及磷酸化ERK(p-ERK)的表达水平,并结合胃癌临床病理资料进行分析。

结果: RASAL1在胃癌组织中呈弱表达或者无表达,而在癌旁组织中呈强阳性表达,两组间表达差异有统计学意义(秩均数分别为35.84和85.16, $P < 0.001$)。ERK在胃癌和癌旁组织中表达无明显差异(秩均数分别为60.68和60.33, $P > 0.05$)。p-ERK在胃癌组织中的水平明显高于癌旁组织中的水平,两组间表达差异有统计学意义(秩均数分别为84.93和36.07, $P < 0.001$),且RASAL1的表达下降、p-ERK的过度表达与肿瘤大小、分期、浸润深度、分化程度及淋巴结转移明显相关(均 $P < 0.05$)。

结论: RASAL1低表达和p-ERK过度表达可能与胃癌的发生、发展有关,而RASAL1可能通过调控ERK的活化,使之成为p-ERK,促进胃癌发生及进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; Ras蛋白激酶类似物-1; 细胞外信号调节激酶; 免疫组织化学

核心提示: 本文研究发现胃癌组织中Ras蛋白激酶类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)呈低表达,而p-ERK呈高表达,并与临床病理特点相关,提示RASAL1可能通过参与调节Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路的活性而抑制胃癌的发生发展。本研究结果将有助于加深理解胃癌发生发展的分子机制,为胃癌的分子诊断、靶向治疗提供新思路。

赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东. RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2929-2936 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929>

0 引言

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,据统计在我国胃癌死亡率居于各种癌症死亡率的首位^[1]。胃癌的发生发展涉及到多基因的改变和多阶段的过程,但具体发病机制目前尚未完全明确。近年来, Ras/Raf/MEK/细胞外信号激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路失调与多种肿瘤的发生发展的关系引起较多关注^[2]。ERK是Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路中的关键激酶,研究表明ERK参与了细胞外信号传递至细胞核的过程,与细胞的增殖、分化有关,并参与肿瘤的发生发展^[2]。Ras蛋白激活物类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)是近年新发现的一个基因,其编码蛋白可激活Ras GTP酶,使与Ras P21蛋白结合的GTP转变为GDP,进而导致Ras P21蛋白失活,起到调节丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路活性的作用,从而参与细胞的增殖、分化及凋亡^[3,4]。已有较多报道发现RASAL1以及ERK的表达失调参与肿瘤发生发展^[2,4,5]。本研究以胃癌组织及其相应癌旁组织为研究对象,采用免疫组织化学的方法检测RASAL1、ERK以及p-ERK的表达水平,并分析其与胃癌发生及进展的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌组织及癌旁组织取自2012-04/2012-12在我院及盐城市第一人民医院确诊为原发性胃癌并行胃癌根治术患者的手术标本($n = 60$)。收集所有病例的病理资料和临床资料,包括年龄、性别、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期等情况。其中男性44例,女性16例;最小年龄49岁,最大79岁,平均年龄65.78岁;有淋巴结转移的患者48例,无淋巴结转移的患者12例;TNM分期1、2期患者26例,3、4期患者34例。所有病例术前未进行任何放疗、化疗及生物靶向治疗。癌旁标本取自距离胃癌组织边缘5 cm以上的组织,标本获得后即以40 g/L甲醛固定24 h,然后取材并以梯度酒精脱水,再以10%硬脂酸石蜡(65 °C)透明浸蜡处理8 h,石蜡包埋;组织块4 μm厚度组织切片,载玻片多聚-L-赖氨酸预处理,捞片后置入烤箱58 °C -60 °C 60 min使切片紧密粘附。ERK、p-ERK及RASAL1一抗购自英国Abcam公司,为羊抗人多克隆抗体,使用浓度为1:200。二抗为兔抗羊单

表 1 癌组织及癌旁组织的RASAL1、ERK、p-ERK的差异性分析 (n)

		表达水平				秩均数	Z值, P值
		-	+	++	+++		
Ras蛋白激活物类似物-1	癌组织	25	28	7	0	35.84	-8.060, <0.001
	癌旁组织	1	8	30	21	85.16	
细胞外信号激酶	癌组织	1	10	29	20	60.68	-0.060, 0.952
	癌旁组织	2	8	31	19	60.33	
磷酸化细胞外信号激酶	癌组织	2	8	24	26	84.93	-7.966, <0.001
	癌旁组织	34	17	9	0	36.07	

克隆IgG-HRP, 购自南京巴傲得生物科技有限公司。

1.2 方法 利用免疫组织化学法(二步法)检测RASAL1、ERK及p-ERK在胃癌组织和癌旁组织的表达水平。病理组织蜡块经4 μ m连续切片、二甲苯脱蜡、将切片浸入0.01 mol/L柠檬酸盐抗原修复缓冲液(pH 6.0)内, 微波炉加热至沸腾后断电, 循环2-3次达到抗原修复目的, 分别做抗RASAL1、ERK及p-ERK免疫组织化学染色。染色方法按免疫组织化学染色试剂盒(Vector Labs, USA)说明书步骤进行。在光镜下观察, 以细胞浆或(和)细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性。将细胞染色强度和阳性细胞百分数分为4级, 阳性细胞数<5%记为0分、5%-29%记为1分、30%-75%为2分、>75%为3分。根据黄色的深浅将无显色评为0分、淡黄色评为1分、桔黄色评为2分、棕黄色评为3分。将每张切片的染色程度与染色细胞百分率得分相乘作为最后得分。0-1分为阴性(-), 2-3分为弱阳性(+), 4-6分为中等阳性(++), >6分为强阳性(+++)。所有染色切片由两位高级职称病理医师独立重复阅片。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析。计数资料采用频数描述原始数据。该资料为单向有序R*C资料, 采用非参数秩和检验比较组间差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织中RASAL1、ERK、p-ERK的表达情况 胃癌组织和癌旁组织经HE染色后, 作抗RASAL1、抗ERK以及p-ERK免疫组织化学染色, 统计其表达情况。结果显示, RASAL1在胃癌组织中呈弱表达或者无表达, 而在癌旁组织中呈强阳性表达; 胃癌组中RASAL1阳性率明显低于癌旁组织中的阳性率, 差异具有统计学意义($P<0.001$)。而p-ERK在胃癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织中的水平($P<0.001$)。ERK在

胃癌组织与癌旁组织中的表达水平无明显差异($P>0.05$)(表1, 图1)。

2.2 胃癌组织中RASAL1、ERK、p-ERK表达与临床病理特征的关系 统计结果表明, RASAL1、ERK、p-ERK的表达与年龄、性别均无明显相关($P>0.05$)。胃癌组织中RASAL1的表达和肿瘤大小($P<0.01$)、分化程度($P<0.05$)、浸润深度($P<0.001$)、淋巴结转移($P<0.05$)、分期($P<0.001$)明显相关, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中, RASAL1呈低表达。p-ERK的表达也和肿瘤大小($P<0.05$)、分化程度($P<0.01$)、浸润深度($P<0.001$)、淋巴结转移($P<0.05$)、TNM分期($P<0.001$)明显相关, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中, p-ERK呈高表达。而胃癌组织中ERK的表达与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期等无明显相关($P>0.05$)(表2-4)。

3 讨论

本研究通过免疫组织化学方法检测了60例胃癌及其相应癌旁组织中RASAL1、ERK以及p-ERK蛋白水平, 发现RASAL1、p-ERK蛋白在胃癌及癌组织中表达有明显的差异, 且两者蛋白表达水平和胃癌的进展相关, ERK在胃癌及癌旁组织中表达无明显差异。

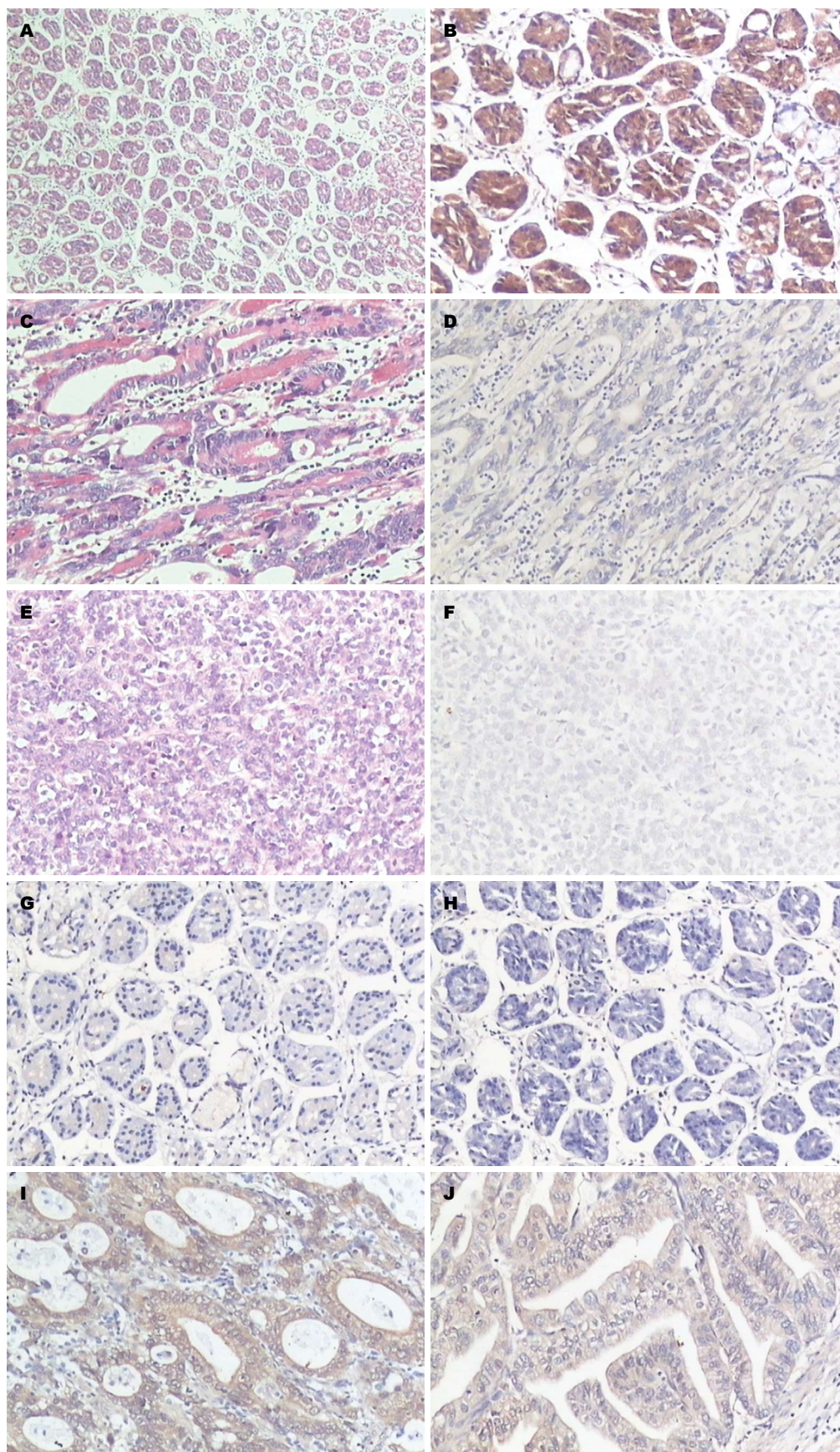
肿瘤的发生发展是一个涉及到多基因的改变和多阶段的过程。原癌基因及抑癌基因不可逆的积累突变并失调是肿瘤发生的一个重要的分子机制^[6]。其中ras基因是研究十分广泛的原癌基因, 编码Ras蛋白^[7], 而ras基因突变、过量表达和多种肿瘤的发生发展密切相关^[8-13]。当Ras蛋白持续活化时, 其能持续激活下游的Raf/MEK/ERK信号传导通路, 造成细胞生长失控、无限制增殖, 进而引起肿瘤的发生^[14-17]。有研究表明Ras蛋白的活性可受Ras蛋白活性调节因子, 如

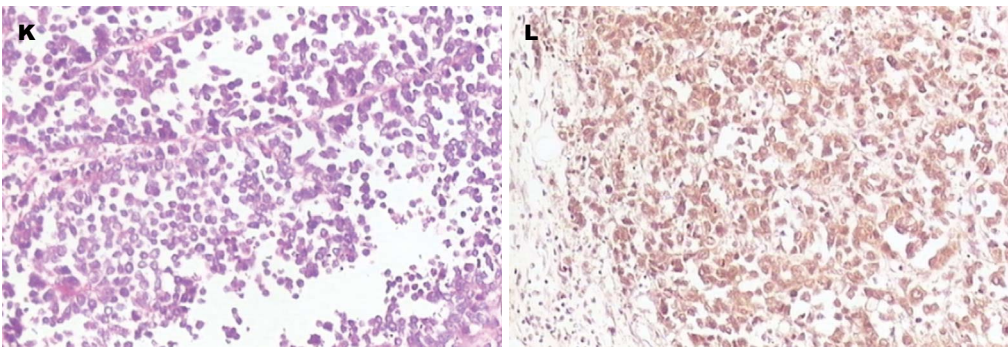
■ 相关报道

杨晓薇等发现胃癌组织中RAS-ALL1基因的表达在mRNA水平和蛋白水平均下调, 表达水平与胃癌的恶性程度有一定关系。夏挺松等检测胃癌组织中RASAL1的表达可反映肿瘤大小、分化程度、浸润深度及有无淋巴结转移, 提示RASAL1基因的低表达与胃癌的发生及进展有密切关系。

■创新盘点

本文同时检测胃癌组织和癌旁组织标本中RASAL1及其下游信号分子ERK和p-ERK的表达情况,结果发现RASAL1和p-ERK在胃癌组织和癌旁组织中的表达有显著差异。作者从细胞外信号调节通路的角度分析这两种差异的内在联系,及其在胃癌的发生发展中的意义。





■应用要点
本文发现胃癌组织中RASAL1呈低表达, 而p-ERK呈高表达, 并与胃癌的临床病理特点密切相关, 该研究结果为胃癌的分子靶向治疗提供了潜在新靶点。

图 1 胃癌组织和癌旁组织中RASAL1、ERK、p-ERK的表达情况。A: 癌旁组织, 距癌组织边缘5 cm以上, 下同(HE染色×40); B: 癌旁组织RASAL1免疫组织化学(×100), >75%的细胞在细胞浆和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性; C: 胃癌组织, HE染色(×100), 中分化腺癌, 癌细胞呈腺管状排列, 腺管大小不一, 癌细胞核浆比例失调, 细胞核深染, 有核仁, 可见核分裂像; D: 胃癌组织的RASAL1免疫组织化学(×100), 中分化胃腺癌, 可见<75%的细胞在细胞浆和细胞膜有黄色颗粒沉着, 呈淡黄色, 计分为弱阳性; E: 低分化胃癌组织的HE染色(×100), 低分化腺癌, 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 细胞核深染, 核浆比失调, 核分裂像多见; F: 低分化胃癌组织的RASAL1免疫组织化学(×100), 基本不着色, 计分为阴性; G: 癌旁组织RASAL1免疫组织化学(×100), <75%的细胞在细胞浆有黄色染色, 呈淡黄色, 计分为弱阳性; H: 癌旁组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 基本不着色, 计分为阴性; I: 中分化胃癌组织的ERK免疫组织化学(×100), >75%的癌细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性; J: 中分化胃癌组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 30%~75%的癌细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为中阳性; K: 低分化胃癌组织的HE染色(×100), 低分化胃腺癌, 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 细胞核深染, 核浆比失调, 核分裂像多见; L: 低分化胃癌组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 核深染上浮, 形态大小不一, 几乎全部细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性。

表 2 胃癌组织中RASAL1表达与临床病理资料的相关性

	表达水平			秩均数	Z值, P值
	-	+	++		
性别					-0.368, 0.713
男	19	20	5	30.05	
女	6	8	2	31.75	
年龄(岁)					-0.635, 0.525
≥60	19	20	7	31.22	
<60	6	8	0	28.14	
肿瘤大小(cm)					-3.517, <0.001
<4	6	18	6	37.70	
≥4	19	10	1	23.30	
浸润深度					-4.115, <0.001
黏膜层和黏膜下层	4	15	7	40.13	
肌层和浆膜层	21	13	0	23.13	
分化程度					-2.460, 0.014
低分化及印戒细胞癌	12	5	1	22.81	
中高分化	13	23	6	33.80	
淋巴结转移					-2.900, 0.004
无	2	5	5	42.38	
有	23	23	2	27.53	
TNM分期					-4.115, <0.001
1、2期	4	15	7	40.13	
3、4期	21	13	0	23.13	

Ras-GTP酶活化蛋白(GTPase activating protein, GAP)调控。Ras GAPs具有GTP酶活性, 能够通过水解作用使Ras蛋白失活。在*ras*基因没有突变的条件下, Ras GAPs的功能缺失同样可以使Ras蛋白的过度活化, 进而促进肿瘤的形成和发展^[4,18-19]。RASAL1作为Ras GAPs可以通过水解

■同行评价

本文结论可信, 具有一定指导意义.

表 3 胃癌组织中p-ERK表达与临床病理资料的相关性

	表达水平				秩均数	Z值, P值
	-	+	++	+++		
性别						-0.344, 0.731
男	1	8	19	16	30.07	
女	0	2	10	4	31.69	
年龄(岁)						-0.057, 0.955
≥60	1	8	22	15	30.57	
<60	0	2	7	5	30.29	
肿瘤大小(cm)						-3.106, 0.002
<4	0	4	18	8	24.03	
≥4	1	6	11	12	36.97	
浸润深度						-3.684, <0.001
黏膜层和黏膜下层	0	5	14	7	21.73	
肌层和浆膜层	1	5	15	13	37.21	
分化程度						-2.883, 0.004
低分化及印戒细胞癌	1	3	8	6	39.67	
中高分化	0	7	21	14	26.57	
淋巴结转移						-2.442, 0.015
无	0	4	5	3	20.33	
有	1	6	24	17	33.04	
TNM分期						-3.684, <0.001
1、2期	0	5	14	7	21.73	
3、4期	1	5	15	13	37.21	

表 4 胃癌组织中ERK表达与临床病理资料的相关性

	表达水平				秩均数	Z值, P值
	-	+	++	+++		
性别						-0.239, 0.813
男	1	6	19	18	30.80	
女	1	2	5	8	29.69	
年龄(岁)						-0.390, 0.697
≥60	2	7	16	21	30.05	
<60	0	1	8	5	31.96	
肿瘤大小(cm)						-0.273, 0.785
<4	2	7	13	8	29.93	
≥4	0	1	11	18	31.07	
浸润深度						-0.698, 0.485
黏膜层和黏膜下层	2	8	10	6	28.85	
肌层和浆膜层	0	0	14	20	31.76	
分化程度						-0.307, 0.759
低分化及印戒细胞癌	0	1	4	13	29.53	
中高分化	2	7	20	13	30.92	
淋巴结转移						-1.176, 0.240
无	1	5	3	3	25.63	
有	1	3	21	23	31.72	
TNM分期						-0.698, 0.485
1、2期	2	8	10	6	28.85	
3、4期	0	0	14	20	31.76	

Ras GTP使Ras蛋白失活而发挥肿瘤生长抑制作用^[3,20]。已有研究表明, *RASAL1*在结直肠癌、肝癌等多种肿瘤中表达下调, 被认为是候选抑癌基因^[21,22]。本课题组既往研究及相关文献也表明 *RASAL1*基因在胃癌细胞株及胃癌组织中表达降低、*RASAL1*基因可能参与了胃癌的发生发展^[22,23-25]。在本研究中, 我们发现*RASAL1*蛋白在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的胃癌病例中*RASAL1*呈现为低表达, 表明胃癌组织的*RASAL1*表达和临床病理特征有着明显的相关性。

ERK是MAPK家族中的重要成员, 通过Ras/Raf/MEK/ERK通路磷酸化激活。活化的ERK(即p-ERK)转移至细胞核内, 可激活下游多种转录因子, 诱导细胞分裂增殖^[26]。大量的研究表明ERK过度活化在细胞恶性转化及演进中起重要作用^[27-29]。本研究发现ERK在胃癌组织中的表达与其在癌旁组织中的表达无明显差异, p-ERK和胃癌可能更为相关。进一步研究也发现, p-ERK的表达和胃癌的临床病例特征有明显的相关性, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中p-ERK呈现高表达。我们推测, 可能由于*RASAL1*的表达降低导致RAS蛋白活性异常上调, 持续激活Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路, 从而使ERK持续活化成为p-ERK, 进而调控细胞异常增殖, 血管生成等, 但具体的调控机制尚有待进一步的研究。

本实验提示胃癌组织中*RASAL1*低表达和p-ERK过度表达可能与胃癌发生、发展有关。进一步深入研究*RASAL1*与ERK信号通路的调控机制可能为胃癌的早期诊断、预后判断以及分子靶向治疗提供实验依据。

4 参考文献

- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21 [PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]
- Santaripia L, Lippman SM, El-Naggar AK. Targeting the MAPK-RAS-RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 103-119 [PMID: 22239440 DOI: 10.1517/14728222.2011.645805]
- Seto M, Ohta M, Ikenoue T, Sugimoto T, Asaoka Y, Tada M, Mohri D, Kudo Y, Ijichi H, Tateishi K, Otsuka M, Hirata Y, Maeda S, Koike K, Omata M. Reduced expression of RAS protein activator like-1 in gastric cancer. *Int J Cancer* 2011; 128: 1293-1302 [PMID: 20473946 DOI: 10.1002/ijc.25459]
- Jin H, Wang X, Ying J, Wong AH, Cui Y, Srivastava G, Shen ZY, Li EM, Zhang Q, Jin J, Kupzig S, Chan AT, Cullen PJ, Tao Q. Epigenetic silencing of a Ca(2+)-regulated Ras GTPase-activating protein RASAL defines a new mechanism of Ras activation in human cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 12353-12358 [PMID: 17640920 DOI: 10.1073/pnas.0700153104]
- Ohta M, Seto M, Ijichi H, Miyabayashi K, Kudo Y, Mohri D, Asaoka Y, Tada M, Tanaka Y, Ikenoue T, Kanai F, Kawabe T, Omata M. Decreased expression of the RAS-GTPase activating protein RASAL1 is associated with colorectal tumor progression. *Gastroenterology* 2009; 136: 206-216 [PMID: 18992247 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.063]
- Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9: 138-141 [PMID: 8516849 DOI: 10.1016/0168-9525(93)90209-Z]
- Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989; 49: 4682-4689 [PMID: 2547513]
- Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 459-465 [PMID: 12778136 DOI: 10.1038/nrc1097]
- Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 11-22 [PMID: 12509763 DOI: 10.1038/nrc969]
- Nakae K, Mitomi H, Saito T, Takahashi M, Morimoto T, Hidaka Y, Sakamoto N, Yao T, Watanabe S. MUC5AC/ β -catenin expression and KRAS gene alteration in laterally spreading colorectal tumors. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5551-5559 [PMID: 23112547 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5551]
- Tan C, Du X. KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5171-5180 [PMID: 23066310 DOI: 10.3748/wjg.v18.i37.5171]
- Brose MS, Volpe P, Feldman M, Kumar M, Rishi I, Gerrero R, Einhorn E, Herlyn M, Minna J, Nicholson A, Roth JA, Albelda SM, Davies H, Cox C, Brignell G, Stephens P, Futreal PA, Wooster R, Stratton MR, Weber BL. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6997-7000 [PMID: 12460918]
- von Lintig FC, Dreilinger AD, Varki NM, Wallace AM, Casteel DE, Boss GR. Ras activation in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 62: 51-62 [PMID: 10989985 DOI: 10.1023/A:1006491619920]
- McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Wong EW, Chang F, Lehmann B, Terrian DM, Milella M, Tafuri A, Stivala F, Libra M, Basecke J, Evangelisti C, Martelli AM, Franklin RA. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1263-1284 [PMID: 17126425 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.10.001]
- Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291-3310 [PMID: 17496923 DOI: 10.1038/sj.onc.1210422]
- Stelman LS, Franklin RA, Abrams SL, Chappell W, Kempf CR, Basecke J, Stivala F, Donia M, Fagone P, Nicoletti F, Libra M, Ruvolo P, Ruvolo V, Evangelisti C, Martelli AM, McCubrey JA. Roles of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in leukemia therapy. *Leukemia* 2011; 25: 1080-1094 [PMID: 21494257 DOI: 10.1038/leu.2011.66]
- Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer. *Onkologie* 2002; 25: 511-518 [PMID: 12566895 DOI: 10.1159/000068621]
- Yarwood S, Bouyoucef-Cherchalli D, Cullen PJ,

- Kupzig S. The GAP1 family of GTPase-activating proteins: spatial and temporal regulators of small GTPase signalling. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 846-850 [PMID: 17052212 DOI: 10.1042/BST0340846]
- 19 Kupzig S, Deaconescu D, Bouyoucef D, Walker SA, Liu Q, Polte CL, Daumke O, Ishizaki T, Lockyer PJ, Wittinghofer A, Cullen PJ. GAP1 family members constitute bifunctional Ras and Rap GTPase-activating proteins. *J Biol Chem* 2006; 281: 9891-9900 [PMID: 16431904 DOI: 10.1074/jbc.M512802200]
- 20 Sot B, Behrmann E, Raunser S, Wittinghofer A. Ras GTPase activating (RasGAP) activity of the dual specificity GAP protein Rasal requires colocalization and C2 domain binding to lipid membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 111-116 [PMID: 23251034 DOI: 10.1073/pnas.1201658110]
- 21 张慧, 陈洪. Ras基因及其调节异常与肿瘤发生的研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 950-53
- 22 Qiao F, Su X, Qiu X, Qian D, Peng X, Chen H, Zhao Z, Fan H. Enforced expression of RASAL1 suppresses cell proliferation and the transformation ability of gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 28: 1475-1481 [PMID: 22825043 DOI: 10.3892/or.2012.1920]
- 23 夏挺松, 陈洪, 钱建忠, 徐洪明, 陆枫林. RASAL1基因在胃癌组织中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1403-1407
- 24 杨晓薇, 陈洪, 孔波, 张慧, 王智, 刘洋. RAS蛋白激活物类似物-1基因(Rasal1)在胃癌细胞中的表达及生物学意义. *癌变·畸变·突变* 2011; 23: 38-41
- 25 Chen H, Yang XW, Zhang H, Yang Q, Wang Z, Liu Y, Lu FL, Zhou BY, Qiu-Xi CH, Lu SL. In vivo and in vitro expression of the RASAL1 gene in human gastric adenocarcinoma and its clinicopathological significance. *Oncol Lett* 2012; 3: 535-540 [PMID: 22740946 DOI: 10.3892/ol.2011.513]
- 26 Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22: 153-183 [PMID: 11294822 DOI: 10.1210/er.22.2.153]
- 27 Feng DY, Zheng H, Tan Y, Cheng RX. Effect of phosphorylation of MAPK and Stat3 and expression of c-fos and c-jun proteins on hepatocarcinogenesis and their clinical significance. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 33-36 [PMID: 11819729]
- 28 Liu Y, Yang Y, Ye YC, Shi QF, Chai K, Tashiro S, Onodera S, Ikejima T. Activation of ERK-p53 and ERK-mediated phosphorylation of Bcl-2 are involved in autophagic cell death induced by the c-Met inhibitor SU11274 in human lung cancer A549 cells. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 423-432 [PMID: 22466960 DOI: 10.1254/jphs.11181FP]
- 29 Ravenhall C, Guida E, Harris T, Koutsoubos V, Stewart A. The importance of ERK activity in the regulation of cyclin D1 levels and DNA synthesis in human cultured airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 17-28 [PMID: 10960064 DOI: 10.1038/sj.bjp.0703454]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



下调缺氧诱导因子-1 α 表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响

王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福

王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福, 南通大学附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226001
王理, 博士后, 副教授, 主要从事临床医学及信息管理的研究。
中国博士后科学基金资助项目, No. 2012M521108
国家自然科学基金项目, No. 2013DFA32150
作者贡献分布: 方法研究、数据整理及文章起草由王理完成; 临床资料与病例选择由姚敏完成; 顾星与时运参加完成部分研究工作; 统计分析由邱历伟完成; 设计、论文修改及审阅由姚登福与陆少林完成
通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052413 传真: 0513-85052297
收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-05-28
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Li Wang, Min Yao, Xing Gu, Yun Shi, Li-Wei Qiu, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao

Li Wang, Min Yao, Xing Gu, Yun Shi, Li-Wei Qiu, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Chinese Postdoctoral Science Foundation No. 2012M521108; and the International S and T Cooperation Program of China, No. 2013DFA32150
Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com
Received: 2013-04-23 Revised: 2013-05-28
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To detect the expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) in human hepatocellular carcinoma and to observe the effect of silencing HIF-1 α gene on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma HepG2 cells.

METHODS: Hepatocellular carcinoma tissue samples and matched tumor-adjacent tissue samples were collected to detect the expression and cellular distribution of HIF-1 α by immuno-

histochemistry. HIF-1 α -specific miRNAs were synthesized and screened. After HepG2 cells were transfected with a miRNA, the expression of HIF-1 α mRNA and protein was determined by real time-PCR and Western blot, respectively. Cell cycle progression and apoptosis were quantitatively analyzed by flow cytometry and annexin V-FITC/PI double dyeing assay.

RESULTS: HIF-1 α was distributed mainly in the cytoplasm and less in the nucleus, which was especially prominent around the central vein. The positive rate of HIF-1 α expression was significantly lower in hepatocellular carcinoma than in tumor-adjacent tissue (80% vs 100%, $\chi^2 = 22.35$, $P < 0.001$). HIF-1 α expression was correlated with tumor size and differentiation degree. After HepG2 cells were transfected with a miRNA, HIF-1 α expression was down-regulated in a time-dependent manner, the apoptosis rate increased significantly ($P < 0.01$), and HepG2 cells were significantly arrested at G₁ phase (proportion of cells in G₁ phase: 61.49% \pm 1.12%, $P < 0.01$). In the presence of doxorubicin, the apoptosis rate and the proportion of cells in G₁ phase were increased to 36.99% \pm 0.88% and 65.68% \pm 0.91%, respectively.

CONCLUSION: Abnormal HIF-1 α expression is associated with the development of hepatocellular carcinoma. Silencing HIF-1 α gene efficiently inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells possibly by regulating cell cycle progression and apoptosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; HIF-1 α ; miRNA; Gene silencing; Proliferation inhibition

Wang L, Yao M, Gu X, Shi Y, Qiu LW, Lu SL, Yao DF. Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2937-2944 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2937.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2937>

■背景资料

缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)是介导生理性和病理性低氧反应的关键转录因子,在缺氧环境中表达相对显著,在转录水平调控细胞增殖,调控血管新生“开关基因”,与肿瘤的生长、转移和预后等密切相关。肝癌演变过程中,正常脉管系统破坏,共同导致局部缺氧,激活HIF-1 α ,从而增强血管新生,促进癌细胞增殖及转移。

■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科; 庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■ 研发前沿

近年来对肿瘤血管新生的研究表明,血管新生在肝癌的恶变、生长、转移等方面是至关重要的。VEGF是肿瘤诱导产生新生血管的最主要的细胞因子之一,而HIF-1 α 则在基因水平上直接调控VEGF表达,是恶性肿瘤诱导新生血管形成的一个主要调控因子。目前对HIF-1 α 调控肝癌新生血管机制的分析是研究热点,但如何利用这种机制来治疗肝癌尚缺乏深入研究。

摘要

目的: 观察肝癌缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达及靶向其基因转录对肝癌细胞增殖的影响。

方法: 以自身配对法收集术后肝癌及癌周组织,免疫组织化学染色法分析HIF-1 α 胞内表达及分布;按照HIF-1 α 基因序列合成miRNA,筛选干扰效率最佳者转染肝癌(HepG2)细胞,以荧光定量-PCR和Western blot分别检测HIF-1 α 转录和蛋白表达;并以miRNA转染联合阿霉素后,流式细胞仪检测沉默细胞中HIF-1 α 对HepG2细胞增殖的影响。

结果: 肝癌及癌周组织HIF-1 α 表达呈棕黄色颗粒状,位于胞浆和部分胞核,呈均匀表达,中央静脉周围明显;其阳性率癌组织为80%,低于癌旁100%表达($\chi^2 = 22.35, P < 0.001$);与瘤体大小和分化程度相关;HepG2细胞经miRNA干扰后, HIF-1 α 在RNA和蛋白水平分别下降87%和56%,发生细胞凋亡(22.46% \pm 0.61%)和G₁期阻滞(61.49% \pm 1.12%, $P < 0.01$);加入阿霉素后细胞凋亡率和G₁期细胞分别增至36.99% \pm 0.88%和65.68% \pm 0.91%。

结论: HIF-1 α 过表达与肝癌密切相关,以特异性miRNA靶向HIF-1 α ,可调控细胞周期,通过加速凋亡的机制抑制癌细胞增殖。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 缺氧诱导因子-1 α ; miRNA; 基因沉默; 增殖抑制

核心提示: 肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma)血供丰富,传统疗法易耐受,预后极差。肝癌细胞增殖失控导致局部缺氧,激活缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α),进而增强血管新生、促进癌细胞增殖及转移,抑制细胞凋亡和分化。本研究分析了肝癌及癌周组织HIF-1 α 表达,并以miRNA或联合阿霉素在体外干扰细胞中HIF-1 α 表达,观察肝癌细胞凋亡和增殖周期的变化,发现肝癌组织内HIF-1 α 表达水平异常升高,其表达增强与癌周围组织的增生密切相关。沉默HIF-1 α 可逆转缺氧引起的HIF-1 α 升高,控制癌细胞增殖,可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗。

王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福. 下调缺氧诱导因子-1 α 表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2937-2944 URL: <http://www.wjgnet.com>

[com/1009-3079/21/2937.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2937.asp) DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2937>

0 引言

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一多基因、多阶段发生、血供丰富、传统疗法易耐受、预后极差、高度恶性的实体瘤^[1,2]。肝癌细胞增殖失控导致无效或畸形血供增加,在慢性肝损伤、肝硬化、肝癌演变过程中,正常脉管系统破坏,共同导致局部缺氧^[3]。肝组织缺氧微环境,激活缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α),促使其进入细胞核内与HIF- β 异二聚体化,结合于百余种下游靶基因,发挥一系列细胞适应性调节,从而增强血管新生、癌细胞增殖及转移、对放化疗耐受、抑制细胞凋亡和分化^[4,5]。HIF-1 α 是介导生理性和病理性低氧反应的关键转录因子,在缺氧环境中表达相对显著,在转录水平调控细胞增殖,调控血管新生“开关基因”,激活许多缺氧反应性基因表达,与肿瘤的生长、转移和预后等密切相关^[6,7]。本文分析了肝癌及癌周组织HIF-1 α 表达,并以miRNA在体外干扰肝癌细胞HIF-1 α 表达,或联合阿霉素观察对肝癌细胞凋亡和增殖周期的变化,以探讨干扰HIF-1 α 活化对肝癌细胞的增殖抑制作用与机制。

1 材料和方法

1.1 材料 35例肝癌组织取自南通大学附属医院2012-03/2012-12肝癌手术标本,标本切下后经40 g/L甲醛溶液固定、取材、石蜡包埋保存,均经病理学检查证实为肝细胞癌,其中高分化8例、中分化22例、低分化5例;男30例,女5例;年龄35-69岁,平均51岁 \pm 9.19岁。癌灶直径为1.0-12.0 cm,中位数4.65 cm \pm 2.96 cm。肿瘤单发者28例, \geq 2个者7例。所有病例均有完整随访资料,按全国肝癌防治协作组制定的标准核实诊断。鼠抗人HIF-1 α 单克隆抗体(Abcam, 英国);双荧光素酶报告基因、pGL3及pRL-TK(Promega, 美国);Annexin-V FITC凋亡检测试剂盒、FuGENE HD转染试剂(Roche, 德国);Premix Taq酶、DNA Marker、T4连接酶、*Xho*-I、*Hind*-III及SYBR Premix Ex Taq(TaKaRa, 日本);RevertAidTM第一链cDNA合成试剂盒(Fermentas, 立陶宛);pcDNATM6.2-GW/EmGFPmiR载体、载体构建盒BLOCK-iTTM含EmGFP的Pol II miR RNAi表达

载体(Invitrogen, 美国); DYEnamic ET Dye测序(Amersham Biosciences, 美国); Top10感受态细胞(百奥生物); 鼠抗人 β -actin一抗、HRP-羊抗鼠二抗、SDS-PAGE、彩色预染蛋白标准、PVDF膜、BCA蛋白、质粒抽提盒(碧云天生物技术有限公司).

1.2 方法

1.2.1 肝总RNA制备与浓度分析: 称取肝组织50 mg, 置于无RNase的匀浆器中, 加入RNA快速制备试剂(TRIzol)1.0 mL匀浆2 min, 在匀浆液中加入氯仿混匀冻存, 高速离心, 上清液中加入等量异丙醇混匀, 再离心并经预冷乙醇洗涤, 弃上清至室温5 min, 加入TE缓冲液置60 °C水浴10 min, 取出置于-85 °C冰箱保存备用. 取RNA提取液置微量比色皿中, 于岛津UV-2201型紫外分光光度计上检测RNA吸光度 A_{260} , 并换算总RNA浓度(μ g/mg组织).

1.2.2 免疫组织化学分析: 采用二步法免疫组织化学检测法, 按照操作说明进行. 组织切片常规脱蜡及水化后, 以EDTA缓冲液冲洗后微波修复10 min. 加入HIF-1 α 一抗, 室温孵育1 h, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次后加入聚合体增强剂, 室温孵育20 min, PBS清洗切片3次后再加入二抗, 室温孵育30 min, PBS洗涤3次后经0.1% DAB显色5 min, 自来水充分冲洗、复染、脱水、透明、封片. 实验以PBS代替一抗作阴性对照. 阳性标准以已知表达HIF-1 α 的乳腺癌组织作阳性对照, 以组织中显示棕黄色颗粒为HIF-1 α 染色阳性. 阳性细胞计数: 每份标本切片选取5个高倍镜视野($\times 400$)作阳性细胞计数, 按阳性细胞(清晰棕黄色染色)所占比例数分为: HIF-1 α 染色阴性(-), 阳性细胞数 $<10\%$; HIF-1 α 染色弱阳性(+), $10\%-25\%$; HIF-1 α 染色中等阳性(++), 阳性细胞数在 $26\%-50\%$; HIF-1 α 染色呈强阳性(+++), 阳性细胞数 $>50\%$.

1.2.3 细胞培养: 肝癌细胞株(HepG2, 南京凯基)常规复苏后, 以RPMI 1640完全培养液(含1%非必需氨基酸), 37 °C, 50 mL/L CO₂及100%湿度的条件下培养, 传代, 取对数生长期细胞分析. 设空白、阴性和干扰组, 检测细胞凋亡及周期时, 另加两组分别为阿霉素组(0.5 μ mol/L)和干扰联合阿霉素组(0.5 μ mol/L), 每组均设3个复孔. 空白组常规培养; 阴性组添加阴性质粒和转染试剂培养; 干扰组加靶向HIF-1 α 载体和转染培养. 于转染后24、48和72 h收集细胞.

1.2.3 miRNA设计: 人HIF-1 α mRNA序列(NM_001530), 用Invitrogen miRNA设计系统软件设计4对miRNA寡聚单链DNA. 将4对oligo各自退火成双链. 然后用载体构建试剂盒BLOCK-iT™ Pol II miR RNAi Expression Vector Kit with EmGFP(Invitrogen公司)进行重组克隆, 将双链的miRNA oligo各自插入到miRNA表达载体pcDNA™6.2-GW/EmGFPmiR中, 构建miRNA质粒, 筛选干扰效率最佳一对序列为5'-TGCTGTAAAGCATCAGGTTCTTCTTGT TTGGCC ACTGACTGACAAGAAGGACTGATGCTTTA-3'和5'-CCTGTAAAGCATCAGTC CTCT TGTCAGTCAGTGCCAAAA-CAAGAAGGAACCTGATGCTTT AC-3', 其中加下划线部分为靶区序列, 其上下游为茎环结构.

1.2.4 细胞转染: FuGENE HD转染试剂转染HepG2细胞. 转染前24 h每孔接种2 mL细胞悬液, 浓度为 1×10^5 /mL, 使转染时细胞密度达80%-90%. 每孔加转染试剂和干扰载体, RPMI 1640完全培养补至100 μ L, 室温静置15 min, 以形成干扰载体与转染试剂稳定复合物. 吸弃培养液, PBS洗两遍, 加入干扰载体与转染试剂稳定复合物, 加完全培养补至2 mL, 晃匀, 培养, 于转染后24、48和72 h取细胞备用.

1.2.5 干扰效率检测: 以QuickGene RNA culture cell试剂盒于核酸自动提取仪(Fujifilm, 日本)提取总RNA. 利用第一链cDNA合成试剂盒(ReverAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit)经RT-PCR生成相应的cDNA. 以各组cDNA作为模板, 利用染料法进行Real-time PCR, 目标片段扩增引物HIF-1 α -F和HIF-1 α -R的序列分别为5'-CCACTGCCACCACTGATGAA-3'(nt 2254-2273)和5'-TTGGTGA GGCTGTCC-GACTT-3'(nt 2412-2431), 产物大小178 bp, 退火温度为60 °C, 延伸循环数为40. 根据相对定量法计算目标片段的扩增比例, mRNA的相对变化量公式为: $\text{Ratio} = 2^{-\Delta\Delta C_t}$. 以GAPDH作为内参, 各样本重复3次.

1.2.6 Western blot分析: 制作10%分离胶, 蛋白40 μ g, 加上样缓冲液, 沸水浴后上样, 恒压80 V \times 35 min, 后100 V \times 60 min. 结束后转膜, 封闭. 取膜用TBS-T漂洗, 加鼠抗人HIF-1 α (1:500), 4 °C过夜, 漂洗, 加入HRP标记羊抗鼠 IgG(1:1000)二抗, 孵育2 h, 漂洗、DAB显色并摄相.

1.2.7 Annexin V-FITC/PI法分析: 常规消化, 接种,

■ 相关报道

已有的研究表明, HIF-1 α 可调控VEGF和Ang-2, 影响血管生成; 而干扰HIF-1 α 后下调VEGF、Ang等, 显著抑制血管新生, 阻断肿瘤进展. 新近研究显示斯钙素(STC-2)启动子序列含有2个HIF-1 α 的结合位点, HIF-1 α 介导STC-2过表达可上调cyclin D的表达, 推动细胞G₁/S期转变, HIF-1 α 下调后STC-2表达也随之下调.

■创新盘点

本研究发现在人肝细胞性肝癌组织中, HIF-1 α 癌周组织表达明显强于癌灶组织, 提示HIF-1 α 表达增强与癌周组织的增生活跃密切相关。而通过miRNA或联合阿霉素沉默HIF-1 α , 可逆转缺氧引起的HIF-1 α 升高, 控制癌细胞增殖。

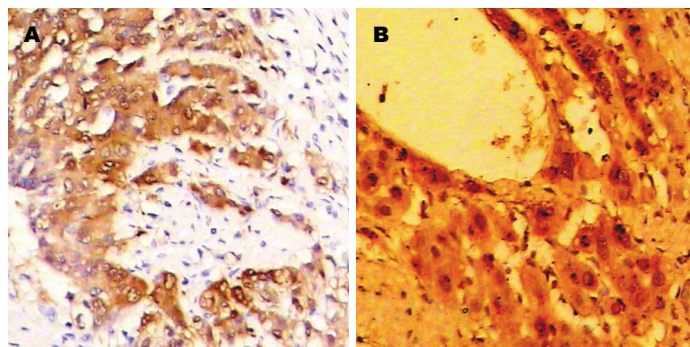


图1 肝癌及癌旁组织HIF-1 α 表达的免疫组织化学分析($\times 200$)。A: 肝癌; B: 癌旁。HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α 。

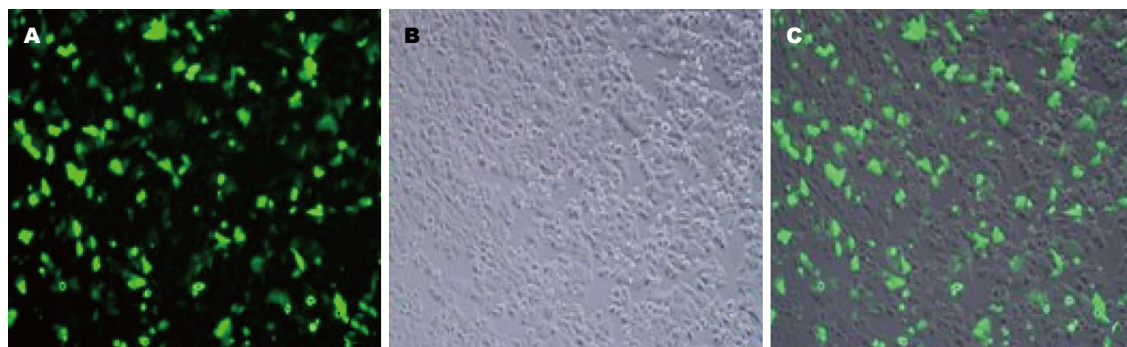


图2 HIF-1 α miRNA转染HepG2细胞荧光显微镜观察($\times 10$)。A: 荧光显微镜图; B: 同一视野普通光镜图; C: 融合图。HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α 。

表1 肝癌及癌周组织总RNA及HIF-1 α 表达的分析 ($n = 35$)

分组	总RNA($\mu\text{g}/\text{mg}$) (mean \pm SD)	HIF-1 α (强度)				阳性 n (%)
		-	+	++	+++	
癌灶	12.4 \pm 7.3	7	21	7	0	28(80.0)
癌旁	53.8 \pm 52.0 ^b	0	10	18	7	35(100) ^b

^b $P < 0.01$ vs 癌灶。HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α 。

培养, 根据设计加入相应试剂。转染加阿霉素, 分别于48、72 h后, 收集细胞, 离心, 洗涤。加入Annexin V-FLUOS/PI混合液, 重悬细胞, 避光, 流式细胞仪进行检测。

1.2.8 细胞周期: 常规消化细胞, 接种, 培养后弃培养基, 根据设计加入相应试剂, 转染后加阿霉素, 收集细胞, 固定, 洗涤, 加碘化丙啶混合液, 避光, 过300目筛网, 以488 nm波长为激发光检测, Macquitt软件分析细胞周期。

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 样本均数间的比较采用方差分析, 两两比较采用 q 检验。用SPSS13.0统计软件包处理、分析数据。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织HIF-1 α 表达与定位 免疫组织化学

显示肝癌及癌周组织HIF-1 α 阳性表达呈棕黄色, 颗粒状, 主要定位于胞浆中, 部分位于胞核。癌周组织HIF-1 α 表达均匀, 坏死区周围及浸润边缘HIF-1 α 表达增多(图1A)。癌旁近肿瘤边缘被压扁的组织条索中及中央静脉周围HIF-1 α 表达明显(图1B)。肝癌HIF-1 α 呈阳性表达28例占总数80%(+)-(++), 20%(7/35)未见表达; 癌周组织HIF-1 α 全数表达, 中等以上强度(++)-(+++), 占71.4%(25/35), 癌周表达明显高于癌组织($\chi^2 = 22.35$, $P < 0.001$, 表1)。HIF-1 α 表达强度与分化程度负相关, 高分化<中分化<低分化($P < 0.05$), 与肿瘤数目、HBsAg感染间均未见明显相关。

2.2 HIF-1 α miRNA转染与鉴定 HIF-1 α miRNA干扰质粒转染HepG2细胞, 于转染后24 h镜下观察, 成功转染的HepG2细胞发绿色荧光, 转染效率达45%(图2)。

表 2 HIF-1 α 干扰后基因的Ct与 Δ Ct值变化与比较 ($n=3$)

分组	24 h			48 h			72 h		
	Ct _{HIF-1α}	Ct _{GAPDH}	Δ Ct	Ct _{HIF-1α}	Ct _{GAPDH}	Δ Ct	Ct _{HIF-1α}	Ct _{GAPDH}	Δ Ct
空白	19.20	14.70	4.50	16.30	13.20	3.10	16.80	13.60	3.20
	19.30	14.80	4.50	16.00	12.90	3.10	16.80	13.20	3.60
	19.50	14.80	4.70	16.20	12.70	3.50	17.00	13.40	3.60
阴性	17.90	13.50	4.40	16.60	13.50	3.10	18.80	15.20	3.60
	18.30	13.30	5.00	16.70	13.00	3.70	18.80	15.00	3.80
	18.10	13.40	4.70	16.50	13.30	3.20	19.20	15.40	3.80
干扰	18.90	13.60	5.30	18.50	13.80	4.70	23.10	16.80	6.30
	18.90	13.80	5.10	18.30	13.60	4.70	23.50	16.70	6.80
	18.90	14.00	4.90	18.00	13.60	4.40	23.20	17.10	6.10

Δ Ct = Ct(HIF-1 α) - Ct(GAPDH). HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α .

表 3 miRNA干扰后HIF-1 α 基因相对定量与效率 ($n=3$)

分组	24 h			48 h			72 h		
	Δ Ct _{均值}	$\Delta\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	Δ Ct _{均值}	$\Delta\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	Δ Ct _{均值}	$\Delta\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}
空白	4.57	0.00	1.00	3.23	0.00	1.00	3.47	0.00	1.00
阴性	4.70	0.13	0.91	3.30	0.10	0.93	3.73	0.27	0.83
干扰	5.10	0.53 ^a	0.69	4.60	1.37	0.39 ^{ac}	6.40	2.93	0.13 ^{ace}

^a $P<0.05$ vs 组内空白组; ^c $P<0.05$ vs 24 h干扰组; ^e $P<0.05$ vs 48 h干扰组. $\Delta\Delta$ Ct = Δ Ct_{样本} - Δ Ct_{空白}, $2^{-\Delta\Delta$ Ct即为各组相对于空白组的干扰效率. HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α .

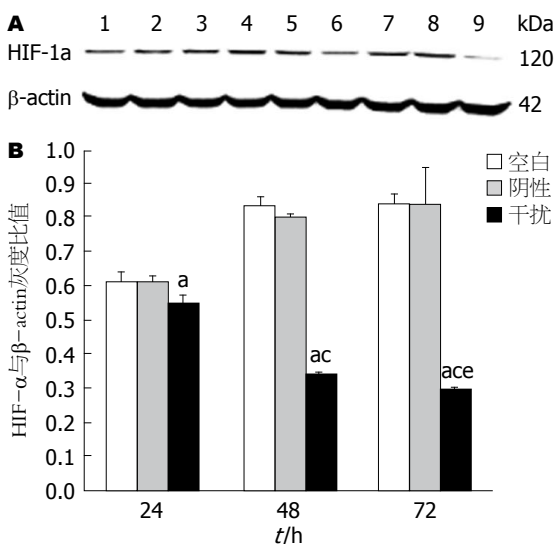


图 3 miRNA转染HepG2细胞HIF-1 α 蛋白表达. A: 24 h(1、2、3)、48 h(4、5、6)和72 h(7、8、9)的空白、阴性和干扰组; B: HIF-1 α 与 β -actin灰度扫描比值, ^a $P<0.05$ vs 空白组; ^c $P<0.05$ vs 24 h组; ^e $P<0.05$ vs 48 h组. HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α .

2.3 miRNA抑制HIF-1 α 基因转录 miRNA干扰HepG2细胞在转录水平上对HIF-1 α 表达抑制如表2. 与空白组相比, 转染HIF-1 α miRNA后24、

48和72 h, HepG2细胞中HIF-1 α mRNA表达量($2^{-\Delta\Delta$ Ct)分别减少为0.69, 0.39和0.13, 抑制率分别为31%, 61%和87%(P 值分别为0.007, 0.000和0.000); 且干扰效率依次递增($P<0.001$). miRNA干扰后HIF-1 α 基因相对定量与效率如表3. 阴性组抑制率未见明显统计学差异. 阴性组抑制率分别为9%、7%和17%, 与空白组相比未见统计学明显差异(P 值分别为0.297, 0.356和0.060).

2.4 miRNA抑制HIF-1 α 蛋白表达 miRNA对HepG2细胞HIF-1 α 蛋白表达的抑制作用如图3. 与空白组比, 转染HIF-1 α miRNA干扰载体 48、72 h后HepG2细胞中HIF-1 α 蛋白表达明显减少(图3A), HIF-1 α 与 β -actin灰度扫描比值显示HIF-1 α 表达量分别减少为空白组的0.85、0.41、0.35, 抑制率为15%、59%、65%(P 值分别为0.024、0.000和0.000); 且蛋白表达率依次递减($P<0.05$). 阴性组与空白组间未见明显统计学差异(图3B).

2.5 miRNA联合阿霉素对癌细胞增殖的影响

2.5.1细胞周期改变: miRNA转染HepG2细胞48和72 h后, HepG2细胞周期时相均发生改变(表

应用要点

TAE或TACE是晚期不可手术肝癌患者的疗法, 可阻断肿瘤血供引起坏死、萎缩, 但因造成缺氧, 诱导HIF-1 α 、VEGF等过表达, 导致侧支循环建立, 癌细胞逃逸, 残余癌迅速膨胀, 终使治疗失败. 联合HIF-1 α 沉默, 可逆转TAE致缺氧引起的HIF-1 α 、VEGF和增殖核抗原升高, 控制血管新生和癌细胞增殖, 抑制残余癌生长, 加强TAE疗效. 且HIF-1 α 沉默, 可逆转放化疗耐受, 可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗, 有应用前景.

■同行评价

本文结果可靠, 科学结论较明确, 实验证据较充足, 具有一定指导意义。

表 4 miRNA转染HepG2细胞周期时相的影响 (%)

分组	空白	阴性	miRNA	阿霉素	阿霉素+miRNA
48 h					
G ₀ /G ₁	37.91 ± 2.05	40.12 ± 1.64 ^a	54.78 ± 1.64 ^a	57.48 ± 0.71 ^a	60.32 ± 1.20 ^{ade}
S	46.48 ± 2.44	43.75 ± 2.10 ^a	28.43 ± 0.76 ^a	27.31 ± 1.32 ^a	24.24 ± 1.88 ^{ace}
G ₂ /M	15.61 ± 0.72	16.13 ± 0.68	16.79 ± 1.93	15.21 ± 0.77	15.44 ± 1.13
72 h					
G ₀ /G ₁	56.75 ± 1.13	57.43 ± 1.27 ^a	61.49 ± 1.12 ^a	61.95 ± 0.42 ^a	65.68 ± 0.91 ^{adf}
S	26.14 ± 0.78	25.56 ± 1.21 ^a	22.40 ± 0.58 ^a	21.62 ± 1.19 ^a	19.47 ± 1.34 ^{ace}
G ₂ /M	17.11 ± 0.36	17.01 ± 0.26	16.11 ± 1.41	16.43 ± 1.61	14.85 ± 2.07

^a $P < 0.05$ vs 空白组, G_0/G_1 期 $q_{48h} = 4.47$, $q_{72h} = 5.50$; ^d $P < 0.01$ vs miRNA组, S期 $q_{48h} = 3.51$, $q_{72h} = 3.48$, ^e $P < 0.05$ vs miRNA组, G_0/G_1 期 $q_{48h} = 3.54$, $q_{72h} = 4.50$; ^f $P < 0.01$, S期 $q_{48h} = 2.24$, $q_{72h} = 2.48$; ^g $P < 0.05$ vs 阿霉素组。

表 5 miRNA转染促进HepG2细胞凋亡

分组	48 h凋亡(%)	q 值	P 值	72 h凋亡(%)	q 值	P 值
空白	3.80 ± 0.12			8.01 ± 0.71		
阴性	4.84 ± 0.23	2.10	0.062	9.38 ± 0.44	1.34	0.081
miRNA	15.49 ± 0.99 ^a	23.65	0.000	22.46 ± 0.61 ^a	14.44	0.000
阿霉素	15.91 ± 0.37 ^a	24.50	0.000	27.52 ± 1.31 ^a	19.51	0.000
阿霉素+miRNA	27.33 ± 0.94 ^{abd}	47.40	0.000	36.99 ± 0.88 ^{abd}	28.98	0.000

^a $P < 0.05$ vs 空白组; $q_{48h} = 23.75$, $q_{72h} = 21.10$, ^b $P < 0.01$ vs miRNA组; $q_{48h} = 22.90$, $q_{72h} = 13.74$, ^d $P < 0.01$ vs 阿霉素组。

4). 干扰组 G_0/G_1 期比例明显高于空白组和阴性组($P < 0.000$), S期比例低于空白组和阴性组($P < 0.000$). 转染后48 h, 联合阿霉素组较阿霉素组 G_0/G_1 期比例增高($q = 0.10$, $P = 0.045$), S期比例减低($q = 2.24$, $P = 0.049$); 转染后72 h, 联合阿霉素组较阿霉素组 G_0/G_1 期比例同样增高($q = 4.50$, $P = 0.001$), S期比例减低($q = 2.48$, $P = 0.033$); 阴性组与空白组间未见统计学明显差异。而 G_2/M 期比例, 各组间均未见统计学明显差异。

2.5.2 促进肝癌细胞凋亡: miRNA转染HepG2细胞48和72 h后, HepG2细胞凋亡率均明显增加(表5); 转染后48 h干扰组凋亡率为15.49% ± 0.99%, 阿霉素组凋亡率为15.91% ± 0.37%, 两者未见显著统计学差异, 而两者联合组凋亡率达27.33% ± 0.94%, 显著高于单用阿霉素组($q = 22.90$, $P < 0.001$); 72 h联合组凋亡率呈现同样改变($q = 13.74$, $P < 0.001$); 阴性组与空白组间未见显著统计学差异。

3 讨论

肝癌组织内HIF-1 α 表达水平异常升高, 肝癌组织及其周围组织中HIF-1 α 阳性表达呈棕黄色, 颗粒状, 主要定位于胞浆中, 部分位于胞核。肝癌发生发展的早期阶段, HIF-1 α 在转录和蛋白

水平上过表达, 癌前和癌变阶段在基因和蛋白表达上呈动态梯度增高^[8]。在人HCC癌灶组织中, 肿瘤坏死区周围及肿瘤浸润边缘HIF-1 α 表达增多; 癌旁组织中靠近肿瘤边缘被压扁的肝组织条索中及中央静脉周围HIF-1 α 表达明显, 癌周组织表达明显强于癌灶组织^[9], 提示HIF-1 α 表达增强与癌周围组织的增生活跃密切相关。

HIF-1 α 调控VEGF和Ang-2^[10,11]。干扰HIF-1 α 后下调VEGF、Ang等, 显著抑制血管新生, 阻断肿瘤进展^[12]。干扰HIF-1 α 后, 随时间延长, HepG2细胞凋亡率逐渐增加, 且 G_1 期细胞明显增多, S期细胞显著减少, 阻断细胞有丝分裂, 从而抑制细胞增殖。斯钙素(STC-2)启动子序列含有2个HIF-1 α 的结合位点, HIF-1 α 介导STC-2过表达可上调cyclin D的表达, 推动细胞 G_1/S 期转变, HIF-1 α 下调后STC-2表达也随之下调^[13]。HIF-1 α 诱导髓样细胞因子、磷酸腺苷反应元件结合蛋白过表达, 降低Bax/Bcl-2比值, 抵抗凋亡; 干扰HIF-1 α 、bcl-2、bcl-xl下调, 抗凋亡能力减弱^[14]。

HIF-1 α 可诱导癌细胞周围间质成纤维细胞发生自噬, 实体癌内巨噬细胞大量浸润及局部缺氧, 缺氧促使巨噬细胞介导的T细胞功能抑制效应增强, 靶向干扰巨噬细胞中HIF-1 α , 明显抑制了移植瘤的生长^[15]。丝氨酸/苏氨酸激酶

-15(STK-15)是细胞周期的重要调节因子、HIF-1 α 下游靶基因,可编码一种中心体复制相关激酶,并具高水平的酪氨酸激酶活性,参与调节、G₂/M期转换等,干扰HIF-1 α 后,STK-15明显减少^[16]。阻断HIF-1 α 活化,可显著增强化疗敏感性,抑制肿瘤生长。HIF-1 α 可上调多重耐药基因 $mdr1$,下调Bax、caspase3表达,抑制P53活性,参与耐药形成;干扰后可增强化疗药物诱导的凋亡,逆转其化疗耐药^[17,18]。HIF-1下调后,提高化疗敏感性,抑制肿瘤形成^[19]。阿霉素联合干扰,凋亡率明显比单组高,表明沉默HIF-1 α 可显著提高化疗敏感性。

TAE或TACE是晚期不可手术肝癌患者的疗法,可阻断肿瘤血供引起坏死、萎缩,但因造成缺氧,诱导HIF-1 α 、VEGF等过表达,导致侧支循环建立,癌细胞逃逸,残余癌迅速膨胀,终使治疗失败^[20]。联合HIF-1 α 沉默,可逆转TAE致缺氧引起的HIF-1 α 、VEGF和增殖核抗原升高,控制血管新生和癌细胞增殖,抑制残余癌生长,加强TAE疗效。且HIF-1 α 沉默,可逆转放化疗耐受,可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗,具有应用前景^[21]。

4 参考文献

- 1 Yao DF, Jiang H, Yao M, Li YM, Gu WJ, Shen YC, Qiu LW, Wu W, Wu XH, Sai WL. Quantitative analysis of hepatic hypoxia-inducible factor-1 α and its abnormal gene expression during the formation of hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 407-413 [PMID: 19666411]
- 2 Raza SA, Clifford GM, Franceschi S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Br J Cancer* 2007; 96: 1127-1134 [PMID: 17406349 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603649]
- 3 van Malenstein H, Verslype C, Windmolders P, van Eijdsden R, Nevens F, van Pelt J. Characterization of a cell culture model for clinically aggressive hepatocellular carcinoma induced by chronic hypoxia. *Cancer Lett* 2012; 315: 178-188 [PMID: 22088439 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.09.039]
- 4 Xiang ZL, Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, He J, Zeng HY, Chang JY. The expression of HIF-1 α in primary hepatocellular carcinoma and its correlation with radiotherapy response and clinical outcome. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 2021-2029 [PMID: 21647551 DOI: 10.1007/s11033-011-0949-1]
- 5 Jiao M, Nan KJ. Activation of PI3 kinase/Akt/HIF-1 α pathway contributes to hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2012; 40: 461-468 [PMID: 21922131]
- 6 Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 537-547 [PMID: 21830968 DOI: 10.1056/NEJMr1011165]
- 7 姚登福, 邱伟伟, 吴玮, 姚宁华, 李珊珊, 卞银珠. 血管内皮生长因子动态表达及干预对肝细胞癌变的影响. *中华医学杂志* 2010; 90: 3014-3018
- 8 Li S, Yao D, Wang L, Wu W, Qiu L, Yao M, Yao N, Zhang H, Yu D, Ni Q. Expression characteristics of hypoxia-inducible factor-1 α and its clinical values in diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon* 2011; 11: 821-828 [PMID: 2224081]
- 9 Huang C, Ding G, Gu C, Zhou J, Kuang M, Ji Y, He Y, Kondo T, Fan J. Decreased selenium-binding protein 1 enhances glutathione peroxidase 1 activity and downregulates HIF-1 α to promote hepatocellular carcinoma invasiveness. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 3042-3053 [PMID: 22512980 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0183]
- 10 Sebastia J, Kieran D, Breen B, King MA, Netteland DF, Joyce D, Fitzpatrick SF, Taylor CT, Prehn JH. Angiogenin protects motoneurons against hypoxic injury. *Cell Death Differ* 2009; 16: 1238-1247 [PMID: 19444281 DOI: 10.1038/cdd.2009.52]
- 11 Simon MP, Tournaire R, Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol* 2008; 217: 809-818 [PMID: 18720385 DOI: 10.1002/jcp.21558]
- 12 Kim TH, Hur EG, Kang SJ, Kim JA, Thapa D, Lee YM, Ku SK, Jung Y, Kwak MK. NRF2 blockade suppresses colon tumor angiogenesis by inhibiting hypoxia-induced activation of HIF-1 α . *Cancer Res* 2011; 71: 2260-2275 [PMID: 21278237 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3007]
- 13 Chiche J, Rouleau M, Gounon P, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J, Mazure NM. Hypoxic enlarged mitochondria protect cancer cells from apoptotic stimuli. *J Cell Physiol* 2010; 222: 648-657 [PMID: 19957303]
- 14 Torii S, Goto Y, Ishizawa T, Hoshi H, Goryo K, Yasumoto K, Fukumura H, Sogawa K. Pro-apoptotic activity of inhibitory PAS domain protein (IPAS), a negative regulator of HIF-1, through binding to pro-survival Bcl-2 family proteins. *Cell Death Differ* 2011; 18: 1711-1725 [PMID: 21546903 DOI: 10.1038/cdd.2011.47]
- 15 Thomas S, Harding MA, Smith SC, Overdevest JB, Nitz MD, Frierson HF, Tomlins SA, Kristiansen G, Theodorescu D. CD24 is an effector of HIF-1-driven primary tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2012; 72: 5600-5612 [PMID: 22926560 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3666]
- 16 Klein A, Flügel D, Kietzmann T. Transcriptional regulation of serine/threonine kinase-15 (STK15) expression by hypoxia and HIF-1. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 3667-3675 [PMID: 18562694 DOI: 10.1091/mbc.E08-01-0042]
- 17 Lau CK, Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Yeoh GC, Poon RT, Fan ST. An Akt/hypoxia-inducible factor-1 α /platelet-derived growth factor-BB autocrine loop mediates hypoxia-induced chemoresistance in liver cancer cells and tumorigenic hepatic progenitor cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3462-3471 [PMID: 19447872 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2127]
- 18 Brökers N, Le-Huu S, Vogel S, Hagos Y, Katschinski DM, Kleinschmidt M. Increased chemoresistance induced by inhibition of HIF-prolyl-hydroxylase domain enzymes. *Cancer Sci* 2010; 101: 129-136 [PMID: 19817749 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01367.x]
- 19 Kasuya K, Tsuchida A, Nagakawa Y, Suzuki M, Abe Y, Itoi T, Serizawa H, Nagao T, Shimazu M,

- Aoki T. Hypoxia-inducible factor-1 α expression and gemcitabine chemotherapy for pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2011; 26: 1399-1406 [PMID: 21922147]
- 20 Chen C, Wang J, Liu R, Qian S. RNA interference of hypoxia-inducible factor-1 α improves the effects of transcatheter arterial embolization in rat liver tumors. *Tumour Biol* 2012; 33: 1095-1103 [PMID: 22407533 DOI: 10.1007/s13277-012-0349-8]
- 21 Sun X, Jiang H, Jiang X, Tan H, Meng Q, Sun B, Xu R, Krissansen GW. Antisense hypoxia-inducible factor-1 α augments transcatheter arterial embolization in the treatment of hepatocellular carcinomas in rats. *Hum Gene Ther* 2009; 20: 314-324 [PMID: 19327024 DOI: 10.1089/hum.2008.164]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响

雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延

雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延, 中山市人民医院普外三科 广东省中山市 528400

雒洪志, 副主任医师, 主要从事胃肠外科的基础与临床研究。

作者贡献分布: 雒洪志与陈宏对本文所作贡献均等; 此课题由雒洪志设计; 研究过程由雒洪志与陈宏操作完成; 指标监测与统计由王尧与邓辉洲完成; 数据分析由郭志刚与李继延完成; 本论文写作由雒洪志完成。

通讯作者: 雒洪志, 副主任医师, 528400, 广东省中山市孙文东路2号, 中山市人民医院普外三科. luo72cn@sina.com
电话: 0760-89880325

收稿日期: 2013-06-15 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus

Hong-Zhi Luo, Hong Chen, Yao Wang, Hui-Zhou Deng, Zhi-Gang Guo, Ji-Yan Li

Hong-Zhi Luo, Hong Chen, Yao Wang, Hui-Zhou Deng, Zhi-Gang Guo, Ji-Yan Li, Department of General Surgery, the People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528400, Guangdong Province, China

Correspondence to: Hong-Zhi Luo, Department of General Surgery, the People's Hospital of Zhongshan City, 2 Sunwen East Road, Zhongshan 528400, Guangdong Province, China. luo72cn@sina.com

Received: 2013-06-15 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus.

METHODS: Twenty obese patients with type 2 diabetes mellitus underwent LRYGB. Fasting blood glucose (FBG), 2-hour postprandial blood glucose (2 h PBG), C peptide (C-P), glycosylated hemoglobin (HbA1C) and fasting insulin (Fins) were recorded before surgery and at the 1st, 4th, 8th, 12th, and 24th week after surgery. Insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated and compared.

RESULTS: LRYGB was successful in all the pa-

tients, without intraoperative complications or conversion to open surgery. FBG decreased from 11.25 mmol/L \pm 3.36 mmol/L before surgery to 6.21 mmol/L \pm 0.52 mmol/L at the 24th week after surgery ($P < 0.05$), 2 h PBG from 15.33 mmol/L \pm 2.54 mmol/L to 8.78 mmol/L \pm 1.51 mmol/L ($P < 0.05$), HbA1C from 9.05% \pm 1.27% to 6.53% \pm 0.58% ($P < 0.05$), HOMA-IR from 7.16 \pm 0.65 to 3.84 \pm 0.47 ($P < 0.05$), and Fins increased from 11.24 mU/L \pm 0.98 mU/L to 12.03 mU/L \pm 0.75 mU/L ($P > 0.05$). The total effective rate was 100%, the recovery rate was 85%, and the improvement rate was 15%.

CONCLUSION: LRYGB can significantly reduce plasma glucose levels and improve glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Roux-en-Y gastric bypass; obese; Type 2 diabetes mellitus; Glucose metabolism

Luo HZ, Chen H, Wang Y, Deng HZ, Guo ZG, Li JY. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2945-2949 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2945>

摘要

目的: 观察腹腔镜下Roux-en-Y胃空肠转流术(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, LRYGB)对肥胖型2型糖尿病的糖代谢影响。

方法: 以20例肥胖型2型糖尿病患者作为研究对象, 实施LRYGB, 测定患者术前1 wk及术后第1、4、8、12、24周空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、餐后2 h血糖(2 h PBG)、糖化血红蛋白(HbA1C)、空腹血清胰岛素(fasting insulin, Fins)的含量, 并比较胰岛素抵抗指数(HOMA-IR = FBG \times Fins/22.5)的变化情况。

■背景资料

随着肥胖症的发病率逐年增高, 由肥胖引发的2型糖尿病正日益威胁着人类的健康, 对重度肥胖型2型糖尿病患者, 内科治疗效果不甚理想, 目前比较经典的全身减肥手术有胃空肠转流术、胃束带手术和胃缩小手术三种腹腔镜手术。近年来兴起的腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术治疗肥胖型2型糖尿病尚存争议, 所以对该术式对患者糖代谢的变化情况, 作出评判, 为肥胖型2型糖尿病的手术治疗提供理论依据尤其重要。

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科; 智绪亭, 教授, 山东大学齐鲁医院普外科

■研究前沿

对于腹腔镜胃空肠转流术治疗糖尿病的机制目前尚无定论,有研究者认为胃空肠转流术通过胃肠改道,让十二指肠及近端空肠旷置,减少食物刺激和消化液分泌,延迟碳水化合物吸收,也有研究者认为其是显著改善餐后胃肠道激素所致的糖代谢变化,目前比较热门学说是术后糖尿病的早期治愈与消化系重建后肠-胰岛轴的激素变化密切相关。

结果: 20例患者手术顺利,均无术中并发症的发生及中转开腹。术后24 wk患者FBG由术前 $11.25 \text{ mmol/L} \pm 3.36 \text{ mmol/L}$ 下降到 $6.21 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$ ($P < 0.05$)、2 h PBG由术前 $15.33 \text{ mmol/L} \pm 2.54 \text{ mmol/L}$ 下降到 $8.78 \text{ mmol/L} \pm 1.51 \text{ mmol/L}$ ($P < 0.05$)、HbA1C由术前 $9.05\% \pm 1.27\%$ 下降到 $6.53\% \pm 0.58\%$ ($P < 0.05$)、Fins由术前 $11.24 \text{ mU/L} \pm 0.98 \text{ mU/L}$ 微升至 $12.03 \text{ mU/L} \pm 0.75 \text{ mU/L}$ ($P > 0.05$)、HOMA-IR由术前 7.16 ± 0.65 下降到 3.84 ± 0.47 ($P < 0.05$);总体有效率为100%,其中治愈率为85%(17/20),好转率15%(3/20)。

结论: 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术可以显著降低肥胖型2型糖尿病的血糖水平,改善糖代谢状态。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜;胃空肠转流术;肥胖;2型糖尿病;糖代谢

核心提示: 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术可以显著降低肥胖型2型糖尿病的血糖水平,改善糖代谢状态。

雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延. 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2945-2949 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2945>

0 引言

目前,随着人们生活水平的提高,肥胖正日益威胁着人类的健康,而由肥胖引发的2型糖尿病发病率逐年增高。Roux-en-Y胃空肠转流术(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, RYGB)治疗肥胖型2型糖尿病已得到大家的肯定^[1,2],腹腔镜下胃旁路手术最早由美国外科医生Wittgrove^[2]于1994年首先报告,是目前最有效的减肥手术之一^[3-6]。本研究采用腹腔镜Roux-en-Y胃旁路术治疗肥胖型2型糖尿病,观察患者术前及术后糖代谢的变化情况,评判其临床疗效,为肥胖型2型糖尿病的手术治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-08/2012-06于我院接受LRYGB手术的肥胖型2型糖尿病患者20例,其中男12例,女8例;年龄23-55岁,平均年龄45岁;术

前平均体质量指数(body mass index, BMI)为 $32.5 \text{ kg/m}^2 \pm 2.4 \text{ kg/m}^2$,平均空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)为 $11.25 \text{ mmol/L} \pm 3.36 \text{ mmol/L}$,餐后2 h血糖(2 h PBG)平均为 $15.33 \text{ mmol/L} \pm 2.54 \text{ mmol/L}$,糖化血红蛋白(HbA1C)平均为 $9.05\% \pm 1.27\%$,空腹血清胰岛素(Fins)平均为 $11.24 \text{ mU/L} \pm 0.98 \text{ mU/L}$,胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)平均为 7.16 ± 0.65 。入选标准:符合以下条件:(1)符合1999年WHO的T2DM诊断标准(空腹血糖 $> 7.11 \text{ mmol/L}$ 和/或餐后2 h血糖 $> 11.11 \text{ mmol/L}$),自愿接受RYGB手术患者;(2)年龄 < 60 岁;(3)病程 < 15 年;(4)胰岛储备功能接近正常,空腹血清C肽 ≥ 2 。排除标准:(1)胰岛素抗体阳性患者;(2)胰岛储备功能异常,空腹血清C肽 $<$ 正常值 $1/3$ 以下;(3)病程 > 15 年;(4)患者心功能、肝功能、肾功能较差,无法耐受手术;(5)合并恶性肿瘤患者;(6)严重的糖尿病并发症患者。

1.2 方法

1.2.1 手术: 常规术前准备,全身麻醉下行RYGB,腹腔镜下悬吊肝脏左外叶,显露贲门。超声刀切开肝胃韧带,于贲门下3 cm左右使用腹腔镜直线型切割吻合器从小弯侧置入,切割胃制作胃小囊,容量控制在30-50 mL。距Treitz韧带以下100 cm处,使用直线型切割吻合器切断空肠,在结肠前用直线型切割吻合器行胃空肠Roux-en-Y吻合,从胃空肠吻合口向下100 cm行空肠侧侧吻合。

1.2.2 分析指标: 测定患者术前1周及术后第1、4、8、12、24周FBG、2 h PBG、HbA1C、Fins的含量,并比较胰岛素抵抗指数($\text{HOMA-IR} = \text{FBG} \times \text{Fins} / 22.5$)的变化情况。

1.2.3 疗效判定(WHO1999年标准): 治愈:随机血糖 $< 11.1 \text{ mmol/L}$, FBG $< 7 \text{ mmol/L}$;好转:血糖值降低 $< 50\%$ (术前血糖值-治愈标准值);无效:血糖值降低 $< 25\%$ (术前血糖值-治愈标准值)。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计学处理,数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

手术结果20例患者手术顺利,均无术中并发症的发生及中转开腹。

术后24 wk患者FBG由术前 $11.25 \text{ mmol/L} \pm 3.36 \text{ mmol/L}$ 下降到 $6.21 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$ ($P < 0.05$)、2 h PBG由术前 $15.33 \text{ mmol/L} \pm 2.54 \text{ mmol/L}$ 下降到 $8.78 \text{ mmol/L} \pm 1.51 \text{ mmol/L}$

表 1 患者术前与术后各指标比较

时间	FBG(mmol/L)	2 h PBG(mmol/L)	HbA1C(%)	Fins(mU/L)	HOMA-IR
术前	11.25 ± 3.36	15.33 ± 2.54	9.05 ± 1.27	11.24 ± 0.98	7.16 ± 0.65
术后1 wk	9.34 ± 2.51	12.33 ± 3.71	8.32 ± 1.17	11.57 ± 0.48	6.89 ± 0.72
术后4 wk	7.56 ± 3.23	8.45 ± 2.70	7.05 ± 0.85	10.33 ± 0.56	6.23 ± 0.51
术后8 wk	6.69 ± 1.74	9.52 ± 1.06	7.21 ± 0.53	11.55 ± 0.34	5.75 ± 0.13
术后12 wk	6.11 ± 2.63	8.31 ± 1.88	6.34 ± 0.62	11.63 ± 0.57	4.28 ± 0.50
术后24 wk	6.21 ± 0.52	8.78 ± 1.51	6.53 ± 0.58	12.03 ± 0.75	3.84 ± 0.47

FBG: 空腹血糖; 2 h PBG: 餐后2 h血糖; HbA1C: 糖化血红蛋白; Fins: 空腹血清胰岛素; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数。

L($P<0.05$)、HbA1C由术前 $9.05\% \pm 1.27\%$ 下降到 $6.53\% \pm 0.58\%$ ($P<0.05$)、Fins由术前 $11.24 \text{ mU/L} \pm 0.98 \text{ mU/L}$ 至 $12.03 \text{ mU/L} \pm 0.75 \text{ mU/L}$ ($P>0.05$)、HOMA-IR由术前 7.16 ± 0.65 下降到 3.84 ± 0.47 ($P<0.05$)(表1)。

疗效评价中总体有效率(治愈率+好转率)为100%, 其中治愈率为85%(17/20); 好转率15%(3/20)。

3 讨论

近年来, 由肥胖引发的2型糖尿病正日益威胁着人类的健康, 而目前的非手术治疗包括控制饮食、口服降糖药物及注射胰岛素等方式由于费用昂贵、患者依从性较差等导致血糖控制不理想^[7], 最终导致糖尿病加重及各种严重并发症的发生^[8]。在2008-09在纽约召开的全球第一届手术治疗2型糖尿病峰会上, 美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)、美国糖尿病协会(American Diabetes Association, ADA)及与会专家就LRYGB用于2型糖尿病患者的治疗达成共识治疗, 并被纳入美国糖尿病协会2009年糖尿病治疗指南^[9]。

对于LRYGB治疗糖尿病的机制目前尚无定论, Hussain等^[10]提出胃空肠转流术通过胃肠改道, 让十二指肠及近端空肠旷置, 减少食物刺激和消化液分泌, 延迟碳水化合物吸收, 更为重要的是可显著改善餐后胃肠道激素所致的糖代谢变化, 目前这一观点得到公认。目前比较热门学说是术后糖尿病的早期治愈与消化系重建后肠-胰岛轴的激素变化密切相关, Rubino等^[11]认为“前肠”(十二指肠和近端空肠)在2型糖尿病发病机制中起着重要作用, 即“前肠假说”, “前肠”被排除出胰岛轴后可以直接治疗糖尿病, 这些治疗作用可能与一些胃肠道激素如胰岛

素生长因子-1、葡萄糖依赖性促胰岛素多肽、胰高血糖素样多肽-1、胆囊收缩素等相关^[12,13]。LRYGB是目前手术治疗糖尿病的首选术式, 国内^[14]外研究均已证明LRYGB可以明显降低肥胖型2型糖尿病患者的空腹血糖、餐后血糖、糖化血红蛋白^[15]、血清胰岛素的水平^[16], 改善眼底病变、手足麻木等糖尿病并发症^[17]。

本研究共有20例肥胖型糖2型糖尿病患者接受LRYGB手术治疗, 均无术中并发症的发生及中转开腹, 说明该术式安全可靠, 但该术式对手术者的技术要求较高, 手术者必须具有熟练的胃肠道腹腔镜操作基础, 尤其必须熟练腹腔镜下缝合打结^[18]。LRYGB手术操作复杂, 学习曲线陡峭, 在学习曲线内发生并发症的临床处理棘手^[19], 这点应引起初学者的足够重视; 在患者选择上, 目前国内和国外的指征尚存争议, 我们参考近年来的国内外相关研究, 认为结合中国人的体型和营养状态, 患者必须符合1999年WHO的2型糖尿病的诊断标准(空腹血糖 $> 7.11 \text{ mmol/L}$ 和/或餐后2 h血糖 $> 11.11 \text{ mmol/L}$)、BMI $\geq 28.5 \text{ kg/m}^2$, 且患者具有强烈的手术意愿。

本研究发现术后24 wk FPG、2 h PG、HbA1C和HOMA-IR与术前相比均明显下降, 但Fins在手术前后变化不大, 表明本术式能显著改善患者的胰岛素抵抗性, 且对血清胰岛素水平无显著影响, 这与国内多数学者^[20-22]的研究结果近似。

本研究中总体治疗有效率为100%, 其中治愈率为85%, 好转率15%, 与黄致钨^[23]研究结果相近。研究中也发现部分患者术前有糖尿病合并症, 如高血压^[24]、糖尿病眼病、糖尿病周围神经病变等在术后其症状均有不同程度的改善。我们同时发现术前越肥胖的患者、糖尿病病程较短的患者在术后血糖更易控制, 减重效果愈理想, 这与Hall等^[25]的研究结果类似, 可能提示

■ 相关报道

腹腔镜下胃旁路手术最早由美国外科医生Wittgrove于1994年首先报告, 国内学者杨景哥、王存川等较早于2004年将腹腔镜胃空肠转流术应用于2型糖尿病的治疗, 取得较好疗效, 是目前最有效的减肥手术之一。

■应用要点

肥胖型2型糖尿病患者目前的非手术治疗包括控制饮食、口服降糖药物及注射胰岛素等方式由于费用昂贵、患者依从性较差等导致血糖控制不理想,最终导致糖尿病加重及各种严重并发症的发生,如接受腹腔镜胃空肠转流术,大多数患者完全可以摒弃胰岛素注射,获得彻底终生有效治愈效果,大大节约社会医疗费用。

对较肥胖的糖尿病患者,应尽早进行手术干预。

虽然目前相关研究已证实LRYGB可治愈大部分肥胖型2型糖尿病,但我们认为其作为糖尿病的一种新的、激进的治疗手段,其术中Roux样留置长度尚存争议, Lee等^[26]认为, Roux样长度100-150 cm时, Roux样长度与患者术后1年BMI改变、体质量绝对减少量之间存在线性对应关系; Freeman^[27]报道, 在Roux样长度 ≥ 180 cm时易出现顽固性腹泻, 而Sugerman^[28]的研究表明Roux样长度 ≥ 250 cm时易出现营养障碍。另外, 对一些术后并发症^[29], 如切口感染、吻合口溃疡、吻合口漏、肠梗阻等应引起足够重视。长期疗效如何、是否有残胃癌变、营养不良发生率^[30]等均有待进一步进行多中心合作、长期随访与回顾性统计分析。

4 参考文献

- Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737 [PMID: 15479938 DOI: 10.1001/jama.292.14.1724]
- Wittgrove AC, Clark GW, Schubert KR. Laparoscopic Gastric Bypass, Roux-en-Y: Technique and Results in 75 Patients With 3-30 Months Follow-up. *Obes Surg* 1996; 6: 500-504 [PMID: 10729899 DOI: 10.1381/096089296765556412]
- Mason EE, Ito C. Gastric bypass in obesity. *Surg Clin North Am* 1967; 47: 1345-1351 [PMID: 6073761]
- Patriti A, Aisa MC, Annetti C, Sidoni A, Galli F, Ferri I, Gullà N, Donini A. How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. *Surgery* 2007; 142: 74-85 [PMID: 17630003 DOI: 10.1016/j.surg.2007.03.001]
- Bult MJ, van Dalen T, Muller AF. Surgical treatment of obesity. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 135-145 [PMID: 18230819 DOI: 10.1530/EJE-07-0145]
- DePaula AL, Macedo AL, Rassi N, Machado CA, Schraibman V, Silva LQ, Halpern A. Laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus for patients with a body mass index less than 35. *Surg Endosc* 2008; 22: 706-716 [PMID: 17704886 DOI: 10.1007/S00464-007-9472-9]
- Detournay B, Cros S, Charbonnel B, Grimaldi A, Liard F, Cogneau J, Fagnani F, Eschwège E. Managing type 2 diabetes in France: the ECODIA survey. *Diabetes Metab* 2000; 26: 363-369 [PMID: 11119015]
- Smith BR, Schauer P, Nguyen NT. Surgical approaches to the treatment of obesity: bariatric surgery. *Med Clin North Am* 2011; 95: 1009-1030 [PMID: 21855705 DOI: 10.1016/J.mcna.2011.06.010]
- Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2010; 251: 399-405 [PMID: 19934752 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318be34e7]

- Hussain A, Mahmood H, El-Hasani S. Can Roux-en-Y gastric bypass provide a lifelong solution for diabetes mellitus? *Can J Surg* 2009; 52: E269-E275 [PMID: 20011163]
- Rubino F, Gagner M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2002; 236: 554-559 [PMID: 12409659 DOI: 10.1097/0000658-200211000-00003]
- Oliván B, Teixeira J, Bose M, Bawa B, Chang T, Summe H, Lee H, Laferrère B. Effect of weight loss by diet or gastric bypass surgery on peptide YY3-36 levels. *Ann Surg* 2009; 249: 948-953 [PMID: 19474685 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a6c6db0]
- Drucker DJ. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2007; 117: 24-32 [PMID: 17200703 DOI: 10.1172/JCI30076]
- 李磊, 郑成竹. 胃大部切除毕Ⅱ式胃空肠吻合对2型糖尿病的疗效分析. *中国微创外科杂志* 2008; 8: 951-953
- Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* 1995; 222: 339-350; discussion 350-352 [PMID: 7677463 DOI: 10.1097/0000658-199509000-00011]
- Cummings DE, Flum DR. Gastrointestinal surgery as a treatment for diabetes. *JAMA* 2008; 299: 341-343 [PMID: 18212321 DOI: 10.1001/Jama.299.3.341]
- Pories WJ, MacDonald KG, Flickinger EG, Dohm GL, Sinha MK, Barakat HA, May HJ, Khazanie P, Swanson MS, Morgan E. Is type II diabetes mellitus (NIDDM) a surgical disease? *Ann Surg* 1992; 215: 633-642; discussion 643 [PMID: 1632685]
- 保健明, 徐斌勇, 尹梅. 胃转流手术治疗Ⅱ型糖尿病的治疗体会. *昆明医学院学报* 2010; 10: 89-92
- Schauer PR, Ikramuddin S, Gourash W, Ramanathan R, Luketich J. Outcomes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Ann Surg* 2000; 232: 515-529 [PMID: 10998650 DOI: 10.1097/0000658-200010000-00007]
- 高羽, 童卫东, 刘宝华, 张安平, 李凡, 李春穴, 王李. 全腹腔镜胃转流手术治疗肥胖型和非肥胖型2型糖尿病的疗效分析. *河北医学* 2012; 18: 1191-1194
- 杨景哥, 王存川, 黄璟, 胡友主, 李进义, 潘运龙, 刘贤明, 俞春亮, 沈莹莹, 喻海波. 腹腔镜Roux-en-Y胃旁路术治疗2型糖尿病. *南方医科大学学报* 2010; 30: 1373-1375
- 张玉新, 吴良平, 戴晓江, 唐新智, 康慧鑫. 腹腔镜下胃转流术治疗2型糖尿病临床疗效评价. *局解手术学杂志* 2011; 20: 296-297
- 黄致锐. 腔镜下Roux-en-Y胃旁路术在非病态肥胖患者2型糖尿病治疗中的应用价值. *中国医学科学院学报* 2011; 33: 272-276
- Yan E, Ko E, Luong V, Wang HJ, Romanova M, Li Z. Long-term changes in weight loss and obesity-related comorbidities after Roux-en-Y gastric bypass: a primary care experience. *Am J Surg* 2008; 195: 94-98 [PMID: 18082548 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.01.036]
- Hall TC, Pellen MG, Sedman PC, Jain PK. Preoperative factors predicting remission of type 2 diabetes mellitus after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity. *Obes Surg* 2010; 20: 1245-1250 [PMID: 20524158 DOI: 10.1007/s11695-010-0198-8]
- Lee S, Sahagian KG, Schriver JP. Relationship between varying Roux limb lengths and weight loss

- in gastric bypass. *Curr Surg* 2006; 63: 259-263 [PMID: 16843777 DOI: 10.1016/j.cursur.2006.05.001]
- 27 Freeman JB, Kotlarewsky M, Phoenix C. Weight loss after extended gastric bypass. *Obes Surg* 1997; 7: 337-344 [PMID: 9730521 DOI: 10.1381/096089297765555593]
- 28 Sugerman HJ, Kellum JM, DeMaria EJ. Conversion of proximal to distal gastric bypass for failed gastric bypass for superobesity. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 517-524; discussion 524-526 [PMID: 9834387 DOI: 10.1016/s1091-255x(97)80067-4]
- 29 刘斌, 王瑜. 正确认识胃旁路术后并发症. *中国现代普通外科进展* 2010; 13: 806-808
- 30 Fujioka K. Follow-up of nutritional and metabolic problems after bariatric surgery. *Diabetes Care* 2005; 28: 481-484 [PMID: 15677821 DOI: 10.2337/dia-care.28.2.481]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文结合国内外相关研究立题, 观点新颖, 论据充分, 结论可信, 是一篇学术价值较高的专业论文, 对临床糖尿病的治疗具有较大的指导价值。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)。

S-1治疗进展期胃癌的研究进展

杨健, 周炎, 陈锦飞

■背景资料

我国为胃癌高发区,近50%的患者确诊时已为局部晚期或远处转移。化疗是进展期胃癌治疗不可或缺的手段,人们也不断寻求着高效低毒的化疗药物。S-1作为在胃癌治疗经典药物-5-氟尿嘧啶基础上研发的新药,其使用安全性、有效性及适用性被广泛探讨。

杨健, 周炎, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科 江苏省宜兴市 214200

陈锦飞, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤内科 江苏省南京市 210006

杨健, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤的诊治。

作者贡献分布: 杨健与周炎完成综述; 陈锦飞审核。

通讯作者: 陈锦飞, 主任医师, 210006, 江苏省南京市秦淮区长乐路68号, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤内科。

jinfuchen@sohu.com

收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-15

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer

Jian Yang, Yan Zhou, Jin-Fei Chen

Jian Yang, Yan Zhou, Department of Oncology, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Jin-Fei Chen, Department of Oncology, the Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jin-Fei Chen, Chief Physician, Department of Oncology, the Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, 68 Changle Road, Qinhuai District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. jinfuchen@sohu.com

Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-15

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

Gastric cancer is the fourth most common malignancy worldwide. More than 50% of gastric cancer patients have unresectable disease at diagnosis, and there is a high rate of local or distant recurrence, even in patients with an operable tumor. Chemotherapy is regarded as a significant and basic treatment that can provide a longer symptom-free period and improve quality of life. S-1 is a novel oral derivative of 5-FU. Compared with 5-FU, S-1 is more tolerable and effective, and will be more convenient to use for patients with advanced gastric cancer. Recent phase II randomized trials of S-1 based chemotherapy have achieved encouraging results with regard to objective response rate and overall survival. This paper aims to review the efficacy of S-1 in treating advanced gastric cancer, molecular markers that can predict efficacy, and the prospect for therapy with S-1 in combination

with new chemotherapeutic drugs or molecularly targeted drugs.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: S-1; Gastric cancer; Chemotherapy

Yang J, Zhou Y, Chen JF. Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2950-2956 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2950.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2950>

摘要

在世界范围内胃癌为第4大常见恶性肿瘤,我国亦为高发区,且在确诊时,约50%的患者已为局部进展或有远处转移,失去了手术机会。全身的系统性化疗能够显著延长患者的无进展生存期和总生存时间,提高生存质量。S-1为口服氟尿嘧啶类新药,与5-氟尿嘧啶(fluorouracil, 5-FU)安全性、耐受性良好的特点,且使用方便。近来一些II、III期随机临床试验对以S-1为基础的方案进行了研究,也取得了令人鼓舞的客观缓解率、总生存率。本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物,并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: S-1; 胃癌; 化疗

核心提示: S-1无论单药还是联合其他化疗药物、靶向治疗药物,均显示出了较高的疗效。随着对S-1疗效相关分子标志物的不断研究,相关的基因监测能更好地指导S-1的临床应用。

杨健, 周炎, 陈锦飞. S-1治疗进展期胃癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2950-2956 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2950.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2950>

0 引言

在世界范围内胃癌为第4大常见恶性肿瘤,死亡

■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

率居所有恶性肿瘤第2位。2008年全球胃癌新发病例数为989600, 死亡病例数为738000^[1]。不同国家甚至同一国家的不同地区胃癌发病差异大, 高、低发区发病率相差近10倍。胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 居各类癌症病死率的第一位, 严重威胁人民健康。目前手术是治疗胃癌最有效的手段, 但大多数患者最终因为肿瘤局部复发或远处转移而死亡。且在确诊时, 约50%的患者已为局部进展或有远处转移, 失去了手术机会。对于这类患者, 单纯的最佳支持治疗只有3-5 mo的中位生存时间^[2,3]。

化疗在进展期胃癌治疗中具有重要地位, 相对于最佳支持治疗, 全身的系统性化疗能够显著延长患者的无进展生存期和总生存时间, 提高生活质量^[4,5]。第一代化疗方案代表为FAM方案(5-FU、多柔比星、丝裂霉素), 此方案不良反应大, 临床已将其淘汰。第二代化疗方案主要有FAMTX方案(5-FU、多柔比星、甲氨蝶呤)、FP方案(5-FU、顺铂)、ELF方案(依托泊苷VP-16、甲酰四氢叶酸、5-FU)、ECF方案(表柔比星、顺铂、5-FU)等, 有效率为30%-40%。以上方案在随机对照的III期临床试验中, 仅ECF方案被证实具有可比有效性^[6], 已被NCCN指南列为进展期胃癌一线治疗方案之一。而该方案中位总生存时间约为9-10 mo, 且存在较大毒性, 亚洲地区人种往往不能耐受, 在日本, 仍提倡两药联合方案用于治疗进展期胃癌。故目前世界范围内缺乏治疗进展期胃癌的标准化疗方案。高效低毒的联合化疗方案亟待证实。自2005年以来, 新的化疗药物不断被应用于进展期胃癌的治疗, 临床新药主要包括: 口服氟尿嘧啶类药物、第三代铂类、紫杉类药物以及拓扑异构酶 I 抑制剂。氟尿嘧啶作为胃癌治疗的基础药物, 经改良为口服制剂, 提高疗效、降低毒性, 且方便使用, 在临床上被广泛应用。

S-1即为口服氟尿嘧啶类新药, 由5-FU前体药物替加氟(Tegafur, FT)及生化调节剂吉美嘧啶(Gimeracil, CDHP)、黏膜保护剂奥替拉西钾(Potassium oxonate, OXO)混合而成。FT在体内经P-450酶作用生成5-FU^[7], 肝内二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)可使5-FU失活。而CDHP是一种DPD抑制剂, 能减缓5-FU的分解代谢, 明显提高5-FU的血药浓度^[8,9]。OXO可抑制胃肠道内氟尿嘧啶磷酸化, 从而降低FU的胃肠道毒性^[10]。近来一些II期随机临床

试验对以S-1为基础的方案进行了研究, 也取得了令人鼓舞的客观缓解率、总生存。例如Koi-zumi等^[11]以S-1联合顺铂方案治疗进展期胃癌患者, 获得了76%的客观缓解率和383 d的中位总生存时间。本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物, 并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景。

1 S-1单药治疗进展期胃癌的疗效与安全性

S-1单药治疗进展期胃癌患者的疾病控制率约为21%-44%, 中位无进展生存时间(progression free survival, PFS)约为3.9-5.7 mo, 中位总生存时间(overall survival, OS)约为10.8-15.7 mo, 主要III-IV度血液学不良反应为中性粒细胞减少、贫血, 发生率在5%-10%、10%-20%, III-IV度非血液学毒性反应主要为乏力、厌食、恶心等, 发生率^[12,13]。研究表明, S-1单药一线治疗老年进展期胃癌患者的疗效较为可靠、不良反应轻^[14]。但随着年龄的增长, 有效率、PFS、OS逐步降低^[15]。

近年来, S-1均采用每日给药方案。但已有文献证实, S-1隔日给药比每日给药能减轻不良反应, 并且能获得较好的临床疗效^[16]。一项前瞻性研究发现在对进展期胃癌的治疗中, S-1隔日给药能获得25%的客观缓解率(overall response ratio, ORR), 及338 d的OS^[17]。在小鼠模型研究中, S-1隔日给药方式与S-1每日给药方式在对肿瘤生长的抑制疗效类似^[18]。对于S-1给药方式值得进一步商榷。

2 以S-1为基础的化疗方案治疗进展期胃癌的疗效及安全性

2.1 S-1联合铂类 在日本, 已把S-1联合顺铂作为一线治疗进展期胃癌的标准方案^[19]。该方案ORR为45%-74%, 中位PFS为5.2-7.8 mo, 中位OS为11-19 mo。III-IV度不良反应主要有: 中性粒细胞减少16.7%-29%, 贫血10%-20%, 厌食12%-30%, 恶心7%-20%, 乏力6%-13%^[20,21]。

由于S-1联合顺铂方案存在较大的不良反应, 一些研究尝试S-1联合低剂量顺铂治疗方案, Tsuji等^[22]采用S-1 80 mg/(m²·d), 分两次使用, 顺铂6 mg/(m²·次), 每周一、四, 持续实行4 wk, 休息2 wk方案, 结果ORR为78.1%, OS为12 mo; Nakata等^[23]采用S-1 80-120 mg/(m²·d), d1-28, 同时顺铂10 mg/(m²·次), 2次/wk方案, 结果ORR为47.1%, OS为11 mo。S-1联合低剂量顺铂的治疗

■研发前沿

近年来针对胃癌高效低毒的联合化疗方案亟待证实。临床新药主要包括: 口服氟尿嘧啶类药物、第三代铂类、紫杉类药物以及拓扑异构酶 I 抑制剂。S-1为改良口服氟尿嘧啶类药物, 如何在临床合理应用, 以提高疗效, 改善患者生活治疗, 被广泛研究。

■相关报道

随着分子肿瘤学的发展,化疗药物疗效相关基因的监测,为个体化治疗提供了依据。我国学者Wang等就S-1治疗胃癌代谢途径中的关键基因多态性与疗效的关联性做了较为深入的研究,为进一步探讨相关分子标志物提供了一定的思路。

似乎临床疗效可,也降低了化疗的不良反应,同时不需要水化治疗,适合患者门诊化疗。但这些均为小样本研究,需要进一步大规模临床试验来验证。

另外,研究者还尝试S-1联合奥沙利铂化疗方案^[24],结果ORR为59%,疾病控制率为84%,PFS为6.5 mo, 1年生存率为71%, OS为16.5 mo。III-IV度不良反应主要有中性粒细胞22%,血小板减少13%,贫血9%,厌食6%,乏力6%,周围神经病变4%。该方案与S-1联合顺铂方案疗效相似,但其消化系不良反应明显减轻,值得进行进一步探讨。

2.2 S-1联合紫杉类 有文献表明^[25],紫杉醇类药物能调节影响S-1疗效的DPD、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)、乳酸脱氢酶核糖基转移酶(oxotriphosphoribosyl transferase, OPRT)等的表达与活性,被认为与S-1有协同作用。S-1与紫杉类药物联合在II期临床试验中也取得了较好的结果。一项来自日本的回顾性研究^[26]共纳入86例患者,多西他赛40 mg/m², d1, S-1 80 mg/(m²·d), d1-14, 每3 wk为一疗程,结果显示ORR为52.4%, PFS为6.5 mo, OS为15.1 mo。主要的III-IV度不良反应为中性粒细胞减少36%,白细胞减少31.7%,中性粒细胞减少性发热4.7%,贫血1.2%,厌食5.8%。另一项II期临床试验^[27]共有54例入组,方案为紫杉醇50 mg/m², d1、8、15, S-1 40 mg/m², bid, d1-14, 每4 wk为一周期,结果发现ORR为46.3%, PFS为6 mo, OS为14.3 mo, 主要的III-IV度不良反应为中性粒细胞减少27.8%,腹泻9.3%。而Kunisaki等^[28]采用多西他赛联合S-1一线治疗进展期胃癌,则获得了57.8%的ORR、PFS为6.9 mo, OS为15.3 mo, 最常见的III-IV度不良反应为中性粒细胞减少40.4%,其次为白细胞减少29.8%。

2.3 S-1联合拓扑异构酶I抑制剂 S-1与伊立替康均被认为是治疗进展期胃癌的有效药物,一些研究也探讨了两者联合应用的价值。一项来自韩国的II期临床试验^[29]采用S-1 40 mg/m², bid, d1-14; 伊立替康150 mg/m², d1, 每3 wk为一疗程。共有45例患者入组,结果ORR为48.9%,中位PFS为5.7 mo, OS为10.4 mo。III-IV度不良反应主要有中性粒细胞减少29.5%,呕吐13.6%。另一项来自日本的研究^[30]则获得了54.2%的ORR及581 d的OS。这些试验提示S-1与伊立替康联合治疗可能可以取得较好的疗效及可接受的不良反应。但在GC0301/TOP002试验中^[31],该方案的

ORR、1.5年生存时间及中位生存时间等指标均未优于S-1单药组,而已有SPIRITS研究^[32]证实S-1联合顺铂比S-1单药明显延长总生存时间,故一些学者认为伊立替康可能并不是最适合与S-1联合应用于进展期胃癌的一线治疗^[33]。

2.4 以S-1为基础的三药联合方案 Sato等^[34]采用S-1联合多西他赛及顺铂方案一线治疗进展期胃癌的II期多中心临床试验显示了很高的有效率。该试验共入组34例患者, S-1 40 mg/m², bid, d1-14; 顺铂 60 mg/m²、多西他赛60 mg/m², d8, 每3 wk为1个周期,结果ORR为87.1%,中位PFS为226 d, OS为687 d。III-IV度不良反应主要有中性粒细胞减少77.4%,厌食35.5%,恶心32.3%。虽然该方案疗效高,但不良反应较重,之后一些研究将多西他赛更换为紫杉醇^[35-37]。结果发现ORR为60%-67%,中位PFS为8-9.4 mo, OS为11-18 mo。而III-IV度不良反应主要为血液学毒性,主要有中性粒细胞减少20%-30%,血小板减少12.7%,贫血11.1%,而非血液学毒性主要有I-II度的恶心27.2%,腹泻9.0%。该方案似乎更为安全,但两者在疗效及生存时间上的差异需要进一步研究。另外,一项来自韩国的研究^[38]采用S-1、伊立替康、奥沙利铂联合一线治疗转移性胃癌, S-1 40 mg/m², bid, d1-14, 伊立替康150 mg/m²、奥沙利铂85 mg/m², d1, 每3 wk为1个疗程,其ORR为75%, OS为17.6 mo,也取得了较好的疗效。

3 其他药物耐药后S-1的疗效与安全性

目前虽然有大量临床试验证实了以S-1为基础的化疗方案在一线治疗进展期胃癌中的疗效,其在二线以上的治疗中能否获益尚未有肯定的结果。

一项II期临床试验^[39]评价了已对紫杉醇和顺铂耐药的进展胃癌患者再使用S-1单药解救化疗的疗效及安全性,共有53例患者入组,给药剂量为体表面积(BSA)<1.25 m², 80 mg/d; BSA<1.5 m², 100 mg/d; BSA>1.5 m², 120 mg/d, 每日分2次给药,连续给药4 wk,休息2 wk。结果9.4%的患者部分缓解,34%的患者病情稳定。中位PFS为4.9 mo, OS为10.4 mo。III-IV度不良反应主要为中性粒细胞减少症,发生率为11%,而非血液学毒性均为I-II度。

另一项来自日本的回顾性研究^[40]则并不推荐S-1作为二线以上治疗进展期胃癌的方案。该研究纳入了21例患者,对伊立替康联合顺铂或氟尿嘧啶耐药,最终无患者获得完全缓解(com-

plete remission, CR)或部分缓解(partial remission, PR), 47.6%的患者病情稳定, 中位OS为271 d, 1年生存率为32%, 且有约20%的患者出现III-IV度贫血或中性粒细胞减少, 分别有9.5%与14.2%的患者出现III-IV度腹泻与厌食。

由于目前这些研究样本量均过小, 且S-1治疗之前耐药的药物不同, 可能对S-1二线上治疗进展期胃癌的疗效及安全性的评估存在缺陷, 需要进一步的研究来指导临床用药。

4 S-1与靶向药物联合方案的探索

传统抗肿瘤药物最大的缺陷在于缺乏选择性, 在快速杀死肿瘤细胞的同时产生明显不良作用。而靶向药物能提高恶性肿瘤治疗的特异性, 最大程度杀灭肿瘤细胞而不损伤机体正常细胞, 已成为当前研究热点。在临床上, 化疗药物联合靶向药物已用于恶性肿瘤的治疗, 取得了较好的疗效, 大量基础及临床研究也在进行中。

Yashiro等^[41]评估了Ki23057、舒尼替尼(sunitinib)、伊马替尼(glivec)、拉帕替尼(lapatinib)及SU11274, 这5种小分子靶向药物与S-1联合, 对胃硬癌细胞的生长抑制活性。最终发现Ki23057与5-FU具有协同抗肿瘤作用。Ki23057作为一种成纤维细胞生长因子受体2抑制剂, 能降低DPD的表达, 增强细胞凋亡速率, 提高p21的表达水平。其联合S-1比单药S-1显著提高原发灶及淋巴结转移灶的对药物的敏感性。Kobunai等^[42]则评估了西妥昔单抗与S-1联合在裸鼠体内的抗肿瘤活性。他们采用了EGFR高表达, 同时K-ras野生型的SC-2和SC-4两种胃癌细胞系。结果发现西妥昔单抗与S-1联合应用比单用其中任何一种药物具有更高的抗肿瘤活性。进一步研究发现, 西妥昔单抗能降低TS mRNA及蛋白表达量, 从而增强S-1的抗肿瘤疗效。这些试验为进展期胃癌化疗联合靶向治疗方案提供了新的理论依据。

此外, 一些I期与II期S-1联合靶向药物的临床试验也在进行中。如2011年第13届ESMO会议上汇报了S-1联合曲妥单抗一线治疗HER-2阳性的进展期胃癌研究。同年, 在亚洲肿瘤学高峰论坛中汇报了尼妥珠单抗联合S-1及顺铂方案一线治疗进展期胃癌的随机单中心研究。另外, 舒尼替尼联合S-1及顺铂方案I期临床试验也在进行中。

5 预测S-1治疗进展期胃癌疗效的分子标志物

近年来, 肿瘤的研究已向分子肿瘤学方向发展。

随着药物遗传学和基因组研究的不断深入, 化疗药物疗效相关的基因监测, 为个体化化疗选择敏感药物提供了依据, 更好地指导临床用药。

由于S-1为复合制剂, CDHP与OXO并无抗肿瘤活性, 对S-1疗效相关分子标志物的研究主要集中在替加氟体内代谢途径相关作用酶上。替加氟在人体肝脏内经由CYP2A6转化为5-FU, 一项来自中国的研究发现^[43], CYP2A6的基因多态性与替加氟生物活化程度相关。CYP2A6*4限制了替加氟向5-FU的转化, 而CYP2A6*1B则能提高5-FU微粒体活性。作者推测中国人群中CYP2A6*4和CYP2A6*1B为替加氟转化为5-FU个体差异的主要基因表型, 对S-1的疗效可能有一定预测作用, 需进一步的研究证实。另外, Jeung等^[44]分析了5-FU代谢及抗肿瘤途径基因, 包括DPD、OPRT、TS和胸腺嘧啶脱氧核苷磷酸化酶(thymidine phosphorylase, TP)mRNA在胃癌组织中的表达, 对S-1治疗进展期胃癌的预测作用, 结果发现OPRT基因高表达, 尤其是OPRT、TP同时高表达的患者, 对S-1的治疗具有较高的客观缓解率(40% vs 10%)。OPRT高表达, 同时TS低表达能延长患者PFS与OS。同样有研究发现^[45], 患者肿瘤组织中OPRT蛋白高表达相对较低表达, 能显著提高S-1治疗进展期胃癌的PFS(23.3 wk vs 14.1 wk)与OS (72.4 wk vs 55.4 wk), 而活检组织中OPRT与TS的比值则被认为可作为预测进展期胃癌患者术前S-1新辅助化疗客观反应率的指标^[46]。另外, 由于SPIRITS试验认为S-1联合顺铂方案(PS-1)比S-1单药治疗显著提高患者总生存时间, 但伴随较高的不良反应, Koizumi等^[47]试图寻找预测S-1单药比PS-1更具优势的生物标志物, 结果发现组织TP和TS mRNA同时低于其截断值时, S-1单药组的中位总生存时间比PS-1组延长(18.2 wk vs 9.4 wk)。

此外, 人们还寻求更为简便的方法来预测S-1的疗效。如有研究表明^[48], 循环肿瘤细胞的监测在预测以S-1为基础的方案治疗进展期胃癌的疗效方面有一定的作用, 而作为能指示DPD活性的^{2-¹³C}-尿嘧啶呼吸试验, 也有研究表明其可用于预测S-1抗肿瘤的疗效^[49]。

6 结论

S-1无论单药还是联合其他化疗药物、靶向治疗药物, 均显示出了较高的有效率及较长的生存时间, 且以其为基础的化疗方案在其他药物治疗失败后仍有一定疗效, 是胃癌治疗中的一种

■创新盘点

本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物, 并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景。

■应用要点

本文通过综述以S-1为基础的药物治疗方案在进展期胃癌中的疗效及不良反应,为临床相关治疗提供了一定的参考,并重点归纳了S-1个体化化疗初步探索的相关预测基因,为临床进一步研究提供方向。

有益选择^[50],随着对S-1疗效相关分子标志物的不断研究,相关的基因监测能更好地指导S-1的临床应用。相信在对进展期胃癌不断的研究下,临床医生有更多的治疗手段与方案,并能最终实现个体化治疗的目标。

7 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Murad AM, Santiago FF, Petroianu A, Rocha PR, Rodrigues MA, Rausch M. Modified therapy with 5-fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced gastric cancer. *Cancer* 1993; 72: 37-41 [PMID: 8508427 DOI: 10.1002/1097-0142(19930701)72]
- Pyrhonen S, Kuitunen T, Nyandoto P, Kouri M. Randomised comparison of fluorouracil, epirubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer. *Br J Cancer* 1995; 71: 587-591 [PMID: 7533517 DOI: 10.1038/bjc.1995.114]
- Casaretto L, Sousa PL, Mari JJ. Chemotherapy versus support cancer treatment in advanced gastric cancer: a meta-analysis. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 431-440 [PMID: 16612465 DOI: 10.1590/S0100-879X2006000400002]
- Wagner AD, Grothe W, Haerting J, Kleber G, Grothey A, Fleig WE. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2903-2909 [PMID: 16782930 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.0245]
- Waters JS, Norman A, Cunningham D, Scarffe JH, Webb A, Harper P, Joffe JK, Maclean M, Mansi J, Leahy M, Hill A, Oates J, Rao S, Nicolson M, Hickish T. Long-term survival after epirubicin, cisplatin and fluorouracil for gastric cancer: results of a randomized trial. *Br J Cancer* 1999; 80: 269-272 [PMID: 10390007 DOI: 10.1038/sj.bjc.6690350]
- Ikeda K, Yoshisue K, Matsushima E, Nagayama S, Kobayashi K, Tyson CA, Chiba K, Kawaguchi Y. Bioactivation of tegafur to 5-fluorouracil is catalyzed by cytochrome P-450 2A6 in human liver microsomes in vitro. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4409-4415 [PMID: 11106261]
- Saif MW, Rosen LS, Saito K, Zerbe C, Ravage-Mass L, Mendelson DS. A phase I study evaluating the effect of CDHP as a component of S-1 on the pharmacokinetics of 5-fluorouracil. *Anticancer Res* 2011; 31: 625-632 [PMID: 21378348]
- Takechi T, Fujioka A, Matsushima E, Fukushima M. Enhancement of the antitumor activity of 5-fluorouracil (5-FU) by inhibiting dihydropyrimidine dehydrogenase activity (DPD) using 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine (CDHP) in human tumour cells. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1271-1277 [PMID: 12044515 DOI: 10.1016/S0959-8049(02)00048-5]
- Maehara Y. S-1 in gastric cancer: a comprehensive review. *Gastric Cancer* 2003; 6 Suppl 1: 2-8 [PMID: 12775012 DOI: 10.1007/s10120-003-0232-9]
- Koizumi W, Tanabe S, Saigenji K, Ohtsu A, Boku N, Nagashima F, Shirao K, Matsumura Y, Gotoh M. Phase I/II study of S-1 combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 2207-2212 [PMID: 14676796 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601413]
- Lee SR, Kim HO, Yoo CH. Clinical outcomes of TS-1 chemotherapy for advanced and recurrent gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 2011; 81: 163-168 [PMID: 22066117 DOI: 10.4174/jkss.2011.81.3.163]
- Koizumi W, Akiya T, Sato A, Sakuyama T, Sasaki E, Tomidokoro T, Hamada T, Fujimori M, Kikuchi Y, Shimada K, Mine T, Yamaguchi K, Sasaki T, Kurihara M. Phase II study of S-1 as first-line treatment for elderly patients over 75 years of age with advanced gastric cancer: the Tokyo Cooperative Oncology Group study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 65: 1093-1099 [PMID: 19727730 DOI: 10.1007/s00280-009-1114-6]
- Lim JH, Lee MH, Kim HG, Shin YW, Yi HG, Shin SH, Hur YS, Kim CS, Chang HJ. Three-weekly s-1 monotherapy as first-line treatment in elderly patients with recurrent or metastatic gastric cancer. *Gut Liver* 2010; 4: 503-507 [PMID: 21253299 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.4.503]
- Tsushima T, Hironaka S, Boku N, Machida N, Yamazaki K, Yasui H, Taku K, Fukutomi A, Onozawa Y. Safety and efficacy of S-1 monotherapy in elderly patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010; 13: 245-250 [PMID: 21128060 DOI: 10.1007/s10120-010-0566-z]
- Sakuma K, Hosoya Y, Arai W, Haruta H, Ui T, Kurashina K, Saito S, Hirashima Y, Yokoyama T, Zuiki T, Hyodo M, Nagai H, Yasuda Y, Shirasaka T. Alternate-day treatment with S-1 in patients with gastric cancer: a retrospective study of strategies for reducing toxicity. *Int J Clin Oncol* 2010; 15: 166-171 [PMID: 20195683 DOI: 10.1007/s10147-010-0036-y]
- Arai W, Hosoya Y, Haruta H, Kurashina K, Saito S, Hirashima Y, Yokoyama T, Zuiki T, Sakuma K, Hyodo M, Yasuda Y, Nagai H, Shirasaka T. Comparison of alternate-day versus consecutive-day treatment with S-1: assessment of tumor growth inhibition and toxicity reduction in gastric cancer cell lines in vitro and in vivo. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 515-520 [PMID: 19093179 DOI: 10.1007/s10147-008-0780-4]
- Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, Sugimachi K, Mitachi Y, Taguchi T. Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1 M tegafur-0.4 M gimestat-1 M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1715-1720 [DOI: 10.1016/S0959-8049(98)00211-1]
- Koizumi W. Clinical development of S-1 plus cisplatin therapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2009; 12: 50-54 [DOI: 10.1007/s10120-008-0487-2]
- Baba E, Esaki T, Ariyama H, Mitsugi K, Morikita T, Fujishima H, Kusaba H, Nakano S, Akashi K. Phase II study of sequential treatment with S-1 and cisplatin for metastatic gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 611-617 [PMID: 21116623 DOI: 10.1007/s00280-010-1529-0]
- Choi IS, Lee KW, Kim KH, Kim YJ, Kim JH, Lee JS. Three-weekly S-1 plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Med Oncol* 2010; 27: 992-997 [PMID: 20077040 DOI: 10.1007/s12032-009-9321-x]
- Tsuji A, Shima Y, Morita S, Uchida M, Okamoto K, Morita M, Horimi T, Shirasaka T. Combination

- chemotherapy of S-1 and low-dose twice-weekly cisplatin for advanced and recurrent gastric cancer in an outpatient setting: a retrospective study. *Anti-cancer Res* 2008; 28: 1433-1438 [PMID: 18505092]
- 23 Nakata B, Tsuji A, Mitachi Y, Taenaka N, Kamano T, Oikawa K, Onoda N, Kambe M, Takahashi M, Shirasaka T, Morita S, Sakamoto J, Tanaka Y, Saji S, Hirakawa K. Phase II trial of S-1 plus low-dose cisplatin for unresectable and recurrent gastric cancer (JFMC27-9902 Step2). *Oncology* 2010; 79: 337-342 [PMID: 21430401 DOI: 10.1159/000323286]
 - 24 Koizumi W, Takiuchi H, Yamada Y, Boku N, Fuse N, Muro K, Komatsu Y, Tsuburaya A. Phase II study of oxaliplatin plus S-1 as first-line treatment for advanced gastric cancer (G-SOX study). *Ann Oncol* 2010; 21: 1001-1005 [PMID: 19875759 DOI: 10.1093/annonc/mdp464]
 - 25 Yoshida K, Yamaguchi K, Osada S, Kawaguchi Y, Takahashi T, Sakashita F, Tanaka Y. Challenge for a better combination with basic evidence. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 212-219 [PMID: 18553230 DOI: 10.1007/s10147-008-0793-z]
 - 26 Tanabe K, Suzuki T, Tokumoto N, Yamamoto H, Yoshida K, Ohdan H. Combination therapy with docetaxel and S-1 as a first-line treatment in patients with advanced or recurrent gastric cancer: a retrospective analysis. *World J Surg Oncol* 2010; 8: 40 [PMID: 20482840 DOI: 10.1186/1477-7819-8-40]
 - 27 Ueda Y, Yamagishi H, Ichikawa D, Okamoto K, Otsuji E, Morii J, Koizumi K, Kakihara N, Shimotsuma M, Yamashita T, Taniguchi F, Aragane H, Nishi H, Itokawa Y, Morita S, Sakamoto J. Multicenter phase II study of weekly paclitaxel plus S-1 combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010; 13: 149-154 [PMID: 20820983 DOI: 10.1007/s10120-010-0548-1]
 - 28 Kunisaki C, Takahashi M, Makino H, Oshima T, Fujii S, Takagawa R, Kimura J, Kosaka T, Ono HA, Akiyama H, Kameda K, Kito F, Morita S, Endo I. Phase II study of biweekly docetaxel and S-1 combination chemotherapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 1363-1368 [PMID: 20803016 DOI: 10.1007/s00280-010-1433-7]
 - 29 Hye J, Kang Shc, Suk J, Oh Shy, Moon H, Lee Es, Hyun C, Chung Iina, Ryoo B. Phase II study of S-1 and irinotecan combination chemotherapy as a first-line therapy for patients with advanced gastric cancer. Korean Cancer Study Group Protocol ST05-02. *ASIA-PAC J CLIN ONCO* 2009; 5: 46-54 [DOI: 10.1111/j.1743-7563.2009.01191.x]
 - 30 Komatsu Y, Yuki S, Fuse N, Kato T, Miyagishima T, Kudo M, Kunieda Y, Tateyama M, Wakahama O, Meguro T, Sakata Y, Asaka M. Phase 1/2 clinical study of irinotecan and oral S-1 (IRIS) in patients with advanced gastric cancer. *Adv Ther* 2010; 27: 483-492 [PMID: 20559897 DOI: 10.1007/s12325-010-0037-2]
 - 31 Narahara H, Iishi H, Imamura H, Tsuburaya A, Chin K, Imamoto H, Esaki T, Furukawa H, Hamada C, Sakata Y. Randomized phase III study comparing the efficacy and safety of irinotecan plus S-1 with S-1 alone as first-line treatment for advanced gastric cancer (study GC0301/TOP-002). *Gastric Cancer* 2011; 14: 72-80 [PMID: 21340666 DOI: 10.1007/s10120-011-0009-5]
 - 32 Koizumi W, Narahara H, Hara T, Takagane A, Akiya T, Takagi M, Miyashita K, Nishizaki T, Kobayashi O, Takiyama W, Toh Y, Nagaie T, Takagi S, Yamamura Y, Yanaoka K, Orita H, Takeuchi M. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 215-221 [PMID: 18282805 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70035-4]
 - 33 Takiuchi H. Combination therapy with S-1 and irinotecan (CPT-11) for advanced or recurrent gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 12: 55-59 [DOI: 10.1007/s10120-008-0462-y]
 - 34 Sato Y, Takayama T, Sagawa T, Takahashi Y, Ohnuma H, Okubo S, Shintani N, Tanaka S, Kida M, Sato Y, Ohta H, Miyanishi K, Sato T, Takimoto R, Kobune M, Yamaguchi K, Hirata K, Niitsu Y, Kato J. Phase II study of S-1, docetaxel and cisplatin combination chemotherapy in patients with unresectable metastatic gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 721-728 [PMID: 20041328 DOI: 10.1007/s00280-009-1215-2]
 - 35 Fujitani K, Hasegawa H, Hirao M, Kurokawa Y, Tsujinaka T. Feasibility study of triplet combination chemotherapy of paclitaxel, cisplatin and S-1 for advanced gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 3085-3091 [PMID: 21868564]
 - 36 Kim JY, Do YR, Park KU, Kim JG, Chae YS, Kim MK, Lee KH, Ryoo HM, Bae SH, Baek JH, Song HS. Multicenter phase II trial of S-1, paclitaxel and cisplatin triplet combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 527-532 [PMID: 20461377 DOI: 10.1007/s00280-010-1353-6]
 - 37 Iwase H, Shimada M, Tsuzuki T, Ina K, Sugihara M, Haruta J, Shinoda M, Kumada T, Goto H. A phase II multi-center study of triple therapy with paclitaxel, S-1 and cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Oncology* 2011; 80: 76-83 [PMID: 21659786 DOI: 10.1159/000328746]
 - 38 Park SR, Kong SY, Rhee J, Park YI, Ryu KW, Lee JH, Kim YW, Choi IJ, Kim CG, Lee JY, Cho SJ, Kim NK. Phase II study of a triplet regimen of S-1 combined with irinotecan and oxaliplatin in patients with metastatic gastric cancer: clinical and pharmacogenetic results. *Ann Oncol* 2011; 22: 890-896 [PMID: 20860988 DOI: 10.1093/annonc/mdq435]
 - 39 Lee SJ, Cho SH, Yoon JY, Hwang JE, Bae WK, Shim HJ, Chung IJ. Phase II study of S-1 monotherapy in paclitaxel- and cisplatin-refractory gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 65: 159-166 [PMID: 19479256 DOI: 10.1007/s00280-009-1019-4]
 - 40 Ono A, Boku N, Onozawa Y, Hironaka S, Fukutomi A, Yasui H, Yamazaki K, Yoshino T, Taku K, Kojima T. Activity of S-1 in advanced or recurrent gastric cancer patients after failure of prior chemotherapy, including irinotecan + cisplatin or fluorouracil (except S-1). *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 332-335 [PMID: 19318372 DOI: 10.1093/jjco/hyp018]
 - 41 Yashiro M, Shinto O, Nakamura K, Tendo M, Matsuoka T, Matsuzaki T, Kaizaki R, Miwa A, Hirakawa K. Synergistic antitumor effects of FGFR2 inhibitor with 5-fluorouracil on scirrhous gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 1004-1016 [PMID: 19621385]
 - 42 Kobunai T, Watanabe T, Fukusato T. Antitumour activity of S-1 in combination with cetuximab on human gastric cancer cell lines in vivo. *Anticancer Res* 2011; 31: 3691-3696 [PMID: 22110188]

■同行评价

本文对S-1在胃癌治疗中的作用、疗效做了较系统全面的综述,为临床治疗方案的个体化选择提供了有益的探讨。

- 43 Wang H, Bian T, Liu D, Jin T, Chen Y, Lin A, Chen C. Association analysis of CYP2A6 genotypes and haplotypes with 5-fluorouracil formation from tegafur in human liver microsomes. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 481-492 [PMID: 21521021 DOI: 10.2217/pgs.10.202]
- 44 Jeung HC, Rha SY, Shin SJ, Lim SJ, Roh JK, Noh SH, Chung HC. Predictive values of 5-fluorouracil pathway genes for S-1 treatment in patients with advanced gastric cancer. *Anticancer Drugs* 2011; 22: 801-810 [PMID: 21572321 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328345c9ae]
- 45 Choi IS, Lee HS, Lee KW, Kim H, Kim KH, Kim YJ, Kim JH, Kim WH, Lee JS. Biomarker analysis in patients with advanced gastric cancer treated with S-1 plus cisplatin chemotherapy: orotate phosphoribosyltransferase expression is associated with treatment outcomes. *Med Oncol* 2011; 28: 991-998 [PMID: 20533001 DOI: 10.1007/s12032-010-9590-4]
- 46 Hashiguchi K, Kitajima Y, Kai K, Hiraki M, Nakamura J, Tokunaga O, Noshiro H, Miyazaki K. A quantitative evaluation of the determinant proteins for S-1 responsiveness in a biopsy specimen assists in patient selection to neoadjuvant therapy in cases of advanced gastric cancer. *Int J Oncol* 2010; 37: 257-264 [PMID: 20596652]
- 47 Koizumi W, Tanabe S, Azuma M, Ishido K, Nishimura K, Sasaki T, Nakatani K, Higuchi K, Nakayama N, Katada C. Impacts of fluorouracil-metabolizing enzymes on the outcomes of patients treated with S-1 alone or S-1 plus cisplatin for first-line treatment of advanced gastric cancer. *Int J Cancer* 2010; 126: 162-170 [PMID: 19588501 DOI: 10.1002/ijc.24726]
- 48 Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, Kuniyoshi R, Takagi K, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in Japanese patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2011; 102: 1188-1192 [PMID: 21401804 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01926.x]
- 49 Ishii Y, Suzuki S, Takahashi Y, Takayama T, Asai S. Can the 2-(13)C-uracil breath test be used to predict the effect of the antitumor drug S-1? *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 333-343 [PMID: 19921195 DOI: 10.1007/s00280-009-1168-5]
- 50 Sanford M. S-1 (Teysono®): a review of its use in advanced gastric cancer in non-Asian populations. *Drugs* 2013; 73: 845-855 [PMID: 23719766 DOI: 10.1007/s40265-013-0062-y]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英, 河北医科大学第二医院消化内科
河北省石家庄市 050000

作者贡献分布: 本文综述由殷小磊与卢伟娜完成; 冯丽英审校。

通讯作者: 冯丽英, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

hysfly888@163.com

电话: 0311-66002958

收稿日期: 2013-05-30 修回日期: 2013-08-23

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Lei Yin, Wei-Na Lu, Li-Ying Feng

Xiao-Lei Yin, Wei-Na Lu, Li-Ying Feng, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Li-Ying Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. hysfly888@163.com

Received: 2013-05-30 Revised: 2013-08-23

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

The LPS/TLR4 signaling pathway is involved in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. The up-regulation of expression of LPS receptor TLR4 induces inflammatory response and promotes liver cell damage in nonalcoholic fatty liver disease. When nonalcoholic fatty liver disease occurs, disordered intestinal bacterial growth leads to increased production of LPS and increased permeability of the intestinal wall and therefore induces intestinal endotoxemia. Via MyD88-dependent and -independent pathways, LPS up-regulates the expression of TLR4 in Kupffer cells, activates NF- κ B, induces strong inflammatory responses and mediates liver injury. This review aims to elucidate the role of the LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: LPS/TLR4 signaling pathway; Nonalco-

holic fatty liver disease; Kupffer cells; Liver injury

Yin XL, Lu WN, Feng LY. Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2957-2962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2957.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2957>

摘要

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号途径参与非酒精性脂肪性肝病的发生发展, 非酒精性脂肪性肝病肝脏中LPS受体TLR4表达上调, 诱导炎症反应, 促使肝细胞损伤。非酒精性脂肪性肝病时肠道菌群失调, LPS产生增多, 肠壁通透性增强, 形成肠源性内毒素血症, LPS上调Kupffer细胞TLR4的表达, 分别通过MyD88-依赖途径和MyD88-不依赖途径, 最终激活核因子 κ B, 诱导强力的炎症反应, 从而介导肝损伤。本文就LPS/TLR4信号途径的构成、调节方式及与非酒精性脂肪性肝病的关系做一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: LPS/TLR4信号途径; 非酒精性脂肪性肝病; Kupffer细胞; 肝损伤

核心提示: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号途径可以诱导炎症、介导氧化应激、参与胰岛素抵抗和肝脏炎症损伤及纤维化修复, 在非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)发病中起关键性作用。

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英. LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(28): 2957-2962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2957.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2957>

0 引言

目前认为非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与脂质代谢异常、胰岛素抵抗、氧化应激及遗传易感性等因素密切

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)在我国发病率呈逐年上升的趋势, 已有研究表明NAFLD时肠道产生的内毒素可以引起肝细胞损伤, 而Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)作为脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的受体, 通过LPS/TLR4信号途径介导的炎症反应在肝细胞损伤中起到重要作用。

■同行评议者

方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部

■ 研发前沿

NAFLD的发病机制中,内毒素通过LPS/TLR4信号途径介导肝细胞损伤是热点研究问题,需要更进一步的实验和临床研究去阐明其机制。

相关^[1]。随着研究的深入,人们逐渐认识到与肠道环境的变化,如小肠细菌过度生长、肠黏膜通透性的改变、细菌移位等过程中肠源性内毒素血症密切相关^[2]。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性杆菌细胞壁外层的主要成分,也称内毒素(endotoxin),是肝损伤中的一个重要因子,他能激发机体引起强烈的炎症反应。Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)是LPS的模式识别受体,表达于各种肝脏细胞中,他的激活导致许多促炎、抗病毒、抗菌因子的产生^[3]。大量证据表明, LPS/TLR4信号途径可以诱导炎症、介导氧化应激、参与胰岛素抵抗和肝脏炎症损伤及纤维化修复,在NAFLD发病机制中起到了关键性作用^[4]。

1 TLR4概述

1.1 TLR4受体 Toll样受体是一类天然免疫关键受体,属于I型跨膜受体^[5]。目前包括10多个成员,最新研究证实, *TLR2*、*TLR4*和*TLR9*的基因多态性与中国人对2型糖尿病及冠脉疾病的易感性有关^[6]。TLR4作为Toll家族的一员,是免疫细胞表面识别病原相关分子模式的一个模式识别受体,是革兰氏阴性细菌细胞壁成分LPS的受体^[7]。TLR4作为LPS的受体,能够迅速诱导促炎、抗病毒、抗菌细胞因子的产生^[8,9]。

TLR4表达于各种肝脏细胞。表达TLR4受体的肝脏细胞持续暴露于肠源性LPS下而不出现炎症反应。一方面与肝脏中TLR4和相关配体的相对低表达有关^[10]。另一方面,肝脏拥有在不同水平上负向调节TLR4的信号途径,我们称其为“肝脏耐受性”^[10]。随着LPS的增加或者TLR4的过表达,当肝脏耐受性破坏时,可以诱导不适当的免疫应答,导致慢性炎症性肝脏疾病的发生^[10]。

1.2 TLR4配体 LPS激活TLR4受体是一个复杂的过程,其中包括几个分子的参与[LPS结合蛋白(LBP)、CD14和MD-2]^[11,12]。革兰氏阴性细菌在侵入人体后LPS脱落与血清中的LBP结合, LBP将其传给CD14形成三者的复合物,再通过MD-2引起TLR4的二聚化,最终激活TLR4。除了LPS, TLR外,还有可以识别来自机体损伤组织或细胞的内源性配体,包括高迁移率蛋白B1(high-mobility group box-B1, HMGB1)、透明质酸、纤维粘连蛋白、热休克蛋白60、游离脂肪酸^[13-15]。最近的研究表明,在无菌条件下,坏死细胞刺激依赖髓样分化因子(MyD88)的TLR4受体,从而先发制人,诱导炎症反应^[16,17]。最新研究表明,许

多TLR4的内源性配体还具有绑定、转运LPS,和/或增强细胞对LPS敏感性的能力。与其称之为TLR4配体,将这些分子定义为PAMP绑定分子或PAMP增敏分子,或许显得更为准确^[18]。

2 LPS/TLR4信号途径

2.1 TLR4正向调节途径 TLR配体与TLR受体的胞外域结合后导致感受器重排,触发胞内域特异性衔接蛋白的募集,进而引起一系列信号级联放大反应^[11,12]。TLR4信号途径分为MyD88-依赖途径(MyD88介导的)和MyD88-不依赖途径(TRIF介导的)^[19]。在MyD88-依赖途径中, TLR4通过TIRAP募集MyD88, 激活IL-1受体相关激酶IRAK-4和IRAK-1, 进一步激活肿瘤坏死受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF-6)和转化生长因子- β -激活激酶1(TGF- β -activated kinase 1, TAK-1)。在MyD88-不依赖途径中, TRIF还可与丝氨酸苏氨酸受体分子(RIP-1)相互作用, 进而激活NF- κ B, 诱导强力的炎症反应, 但是前者对NF- κ B的激活反应更迅速。最新研究表明, TLR4可以通过MyD88和TRIF两个途径的联合作用, 介导促炎的树突状细胞分化, 从而诱导后续的炎症反应^[20]。

2.2 TLR4负向调节途径 TLR4的激活可以诱导强有力的炎症反应, 为了保护宿主免受炎症损伤, 相应的抑制性途径是非常必要的。sTLR4、RP105、MyD88s和A20等都是常见的负向调控元件, TLR4信号途径可以在多个水平上(从受体水平到转录因子水平), 通过多种机制(降解、去泛素化酶、竞争是最常见的形式)被这些负向调控元件所调控。最近研究表明, LPS的刺激能够使miR-146表达增强^[21], 而且miR-146可以抑制IRAK-1和TRAF6, 引起促炎细胞因子的生产。

3 LPS/TLR4与肝脏细胞

在解剖学上肝脏与消化系的循环相连, 来自肠道的血液经门静脉入肝, 称之为肝肠循环。相比机体其他器官, TLR4和MD-2、MyD88等信号分子在正常肝脏处于低mRNA表达水平^[22,23]。由于肝脏长期暴露于肠源性LPS中, 信号分子持续的低表达可能使肝脏对LPS产生了较强的耐受性。近来研究表明, TLR4广泛表达于肝脏的所有细胞中, 对于肝脏清除病原体以及调节肝脏细胞的天然反应具有重要的意义。

3.1 LPS/TLR4与枯否细胞 枯否细胞是位于肝窦隙内的巨噬细胞, 具有吞噬、处理和递呈抗原

的能力,并能分泌多种炎症相关分子,因此枯否细胞(kupffer cells, KCs)在肝脏防御中起着重要作用^[24]。由于肝脏特殊的解剖结构, KCs成为最先接触LPS等肠源性毒素的细胞。在NAFLD发病机制中, TLR4与枯否细胞具有直接的联系^[25]。当向腹腔内注射LPS后,可诱导枯否细胞产生多种细胞因子和趋化因子^[16],但与外周血单核细胞相比,枯否细胞表达低水平的CD14,而CD14是TLR4激活所必需的^[17]。另外, LPS通过刺激枯否细胞激活TLR4信号途径,诱导枯否细胞产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-12、IL-18和抗炎因子IL-10^[26,27]。最近的一项实验更深一层的研究了非酒精性脂肪性肝病中LPS/TLR4通路,肝脏枯否细胞中TLR4受体主要是通过激活下游区的X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP-1)进而激活NF- κ B导致炎症因子的释放,导致单纯性脂肪肝发展到脂肪性肝炎^[28]。

3.2 LPS/TLR4与肝细胞 肝细胞主要行使代谢和解毒功能,可以摄取和清除来自门静脉和体循环的LPS^[29]。虽然TLR配体可以刺激肝细胞TLR4的表达,但LPS水平与TLR4 mRNA表达量之间的关系,仍存在不同意见^[30,31]。研究表明, TLR2在肝细胞中表达,并且LPS、TNF- α 、细菌脂蛋白和IL-1 β 可以上调TLR2的表达水平,表明在炎症环境下肝细胞中的TLR2行使更重要的功能^[19]。

3.3 LPS/TLR4与肝星状细胞 活化的人体肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)表达CD14、TLR4,并可被LPS激活,诱导分泌促炎因子^[32]。TLR4直接刺激HSC诱导炎症反应,如上调炎症趋化因子(CCL2、CCL3、CCL4)和血管细胞粘附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1),下调TGF- β 仿真受体、骨形态发生蛋白和激活素膜结合酶抑制剂(BMP and activin membrane bound inhibitor, BAMBI),增强细胞间粘附分子1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、E-选择素和TGF- β 的功能^[30-32]。最新的研究证实, HMGB1作为TLR4的一个内生配体,可以激活HSC的LPS/TLR4信号途径从而介导炎症反应^[33]。其他肝脏细胞如胆管上皮细胞,肝血窦内皮细胞和肝树突状细胞,也接受LPS刺激表达TLR4,但目前缺少详细的研究^[30]。

4 LPS/TLR4与NAFLD

4.1 LPS/TLR4与肠源性内毒素 肝脏,由于特殊

的解剖位置,不断接触肠源性LPS^[10,34]。最近的研究证实, LPS/TLR4的信号途径在非酒精性脂肪肝病发病机制中起到了重要作用^[10]。不同人群和动物实验均证实, NAFLD的发生与门静脉中不断增加的LPS水平有关。LPS的不断增长主要由肠道细菌过增长、肠壁通透性增强和细菌移位引起^[25,35-37]。Wigg等^[2]发现NAFLD患者中普遍存在小肠细菌过度生长。Bergheim等^[35]证实,持续增加的肠内细菌移位甚至参与了果糖诱导NAFLD的发生。遗传性肥胖或瘦素受体缺乏的动物对LPS有更高的敏感性,在低剂量LPS的刺激下便可以发展成NAFLD^[38]。抗生素或益生菌改善肠道菌群后可以通过抑制LPS/TLR4信号途径预防NAFLD。与瘦素缺乏小鼠相比,肠道菌群的改善可以降低高脂饮食小鼠的LPS水平,减少饮食诱导的肥胖小鼠肝脏甘油三酯的含量^[36,37]。益生菌可以减轻瘦素缺乏小鼠的NASH的炎症程度^[39,40]。

4.2 LPS/TLR4与胰岛素抵抗 大量研究表明,胰岛素抵抗在NAFLD的发生、发展中起了关键作用。一方面, LPS/TLR4信号途径的激活能够增强促炎性细胞因子的表达,进而诱导胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate 1, IRS-1)丝氨酸磷酸化,下调酪氨酸激酶活性间接地阻止胰岛素信号的逐级传导;另一方面, LPS/TLR4信号途径的激活还能够通过抑制胰岛素受体底物-1与胰岛素受体的结合,降低葡萄糖转运体4(glucose transporter 4, GLUT4)的含量,引起肝脏发生胰岛素抵抗^[41]。越来越多的研究证实, LPS/TLR4信号途径除了在NAFLD发病机制中的作用外,其与胰岛素抵抗有密切关系。一方面, Cani等^[42]证实低剂量LPS皮下注射可以导致肝脏胰岛素抵抗。另一方面,胰岛素抵抗状态下,脂肪组织分泌游离脂肪酸增多,游离脂肪酸又能够通过激活TLR4引起胰岛素抵抗^[15]。值得注意的是,一项最新的研究证实,在2型糖尿病患者中TLR4和相关配体表达增强^[43]。同时, Liang等^[44]证实在肥胖和2型糖尿病的受试者中,血清LPS与肌肉细胞的胰岛素抵抗水平正相关,抑制TLR4基因表达,可以减轻肌肉细胞中由内毒素引起的炎症反应和胰岛素抵抗。

4.3 LPS/TLR4在NAFLD发病中的作用 NAFLD患者及动物模型证实,肝脏对LPS的敏感性随着肝脏TLR4的表达增强而增强。在蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine choline deficient diet, MCDD)中, TLR4突变小鼠的肝损伤和脂肪积累降

■相关报道
NAFLD患者血清LPS与肝脏TLR4蛋白呈正相关,而给予益生菌减少肠源性内毒素血症对NAFLD具有良好的治疗效果。

■创新盘点

本文着眼于肠肝循环,从LPS/TLR4信号途径来阐明NAFLD的发病机制,对NAFLD的治疗具有潜在临床意义。

低^[25,36-40,45]。这进一步证实了LPS/TLR4信号途径在NAFLD发病机制中的关键作用。目前研究表明, LPS/TLR4信号途径的增强促进了NAFLD的发展。与果糖诱导的野生型小鼠相比, 果糖诱导的TLR4突变型小鼠由于TLR4的缺失体内肝脏脂质过氧化、Myd88和TNF- α 水平显著减少。这表明, TLR4通过增强ROS和诱导TNF- α 的产生, 从而在调节脂质代谢和炎症反应方面发挥关键作用^[43,46]。Spruss等^[47]发现, 在高果糖饮食诱导的小鼠NAFLD模型中, 观察到肠源性LPS的过度生长与肠黏膜通透性增加具有明显的有关性; 同时证实LPS可以通过LPS/TLR4介导的MyD88信号途径活化枯否细胞, 引起肝脏胰岛素抵抗的发生。Thuy等^[48]的研究表明, 高果糖饮食的NAFLD患者中血清内毒素水平和肝脏TLR4 mRNA表达水平均明显升高, 并且两者之间具有显著的相关性。

5 LPS/TLR4与NAFLD相关肝纤维化及肝硬化

随着慢性肝损伤的进展, 肝脏中细胞外基质不断增加, 出现肝纤维化。肝纤维化的晚期, 肝组织逐渐被细胞外基质和再生结节替代, 形成肝硬化。HSC是细胞外基质的主要来源。尽管在肝脏中TLR4表达水平最高的枯否细胞被认为是LPS的主要靶点, 但表达于HSC上的TLR4则主要促进了肝纤维化^[30]。肝纤维化过程中肠道菌群发生改变, 黏膜完整性降低, 肠黏膜屏障消失, 因此LPS/TLR4途径在肝纤维形成中具有重要作用。最近研究证实, 先天性TLR4缺陷和TLR4基因特定的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)都与人大鼠HSC的LPS敏感性下降有关, 通过减少TLR4介导的炎症和纤维化信号转导以及降低活化HSC的凋亡阈值, 肝脏纤维化产生相应的保护作用^[49,50]。

肝脏损伤修复期伴随血管生成的出现, 这是肝纤维化特征性的表现之一。Jagavelu等^[51]研究TLR4失活的CC14诱导肝硬化小鼠模型时发现, 通过LPS诱发的肝脏血管生成及纤维化程度明显减轻, 证明LPS可以通过激活活赖MyD88的LPS/TLR4信号途径促进血管生成。

6 结论

LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病的发病机制中发挥了至关重要的作用。了解LPS/

TLR4信号途径的精确的级联反应和肠源性内毒素对肝脏特定细胞的影响, 将不仅对NAFLD发病机制提供新的见解, 而且也能指明研究治疗干预措施的新方向。

7 参考文献

- 1 Birkenfeld AL, Shulman GI. Non alcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Hepatology* 2013 Aug 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23929732 DOI: 10.1002/hep.26672]
- 2 Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001; 48: 206-211 [PMID: 11156641]
- 3 Choi KC, Hwang JM, Bang SJ, Kim BT, Kim DH, Chae M, Lee SA, Choi GJ, Kim da H, Lee JC. Chloroform extract of alfalfa (*Medicago sativa*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by downregulating ERK/NF- κ B signaling and cytokine production. *J Med Food* 2013; 16: 410-420 [PMID: 23631491 DOI: 10.1089/jmf.2012.2679]
- 4 Roh YS, Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 1: 38-42 [PMID: 23855294 DOI: 10.1111/jgh.12019]
- 5 Love W, Dobbs N, Tabor L, Simecka JW. Toll-like receptor 2 (TLR2) plays a major role in innate resistance in the lung against murine *Mycoplasma*. *PLoS One* 2010; 5: e10739 [PMID: 20505832 DOI: 10.1371/journal.pone.0010739]
- 6 Liu F, Lu W, Qian Q, Qi W, Hu J, Feng B. Frequency of TLR 2, 4, and 9 gene polymorphisms in Chinese population and their susceptibility to type 2 diabetes and coronary artery disease. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 373945 [PMID: 23091345 DOI: 10.1155/2012/373945]
- 7 Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801 [PMID: 16497588]
- 8 Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406: 782-787 [PMID: 10963608]
- 9 Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood* 2009; 113: 1399-1407 [PMID: 18757776 DOI: 10.1182/blood-2008-07-019307]
- 10 Pimentel-Nunes P, Soares JB, Roncon-Albuquerque R, Dinis-Ribeiro M, Leite-Moreira AF. Toll-like receptors as therapeutic targets in gastrointestinal diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 347-368 [PMID: 20146632 DOI: 10.1517/14728221003642027]
- 11 Kim HM, Park BS, Kim JL, Kim SE, Lee J, Oh SC, Enkhbayar P, Matsushima N, Lee H, Yoo OJ, Lee JO. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 2007; 130: 906-917 [PMID: 17803912]
- 12 Bryant CE, Spring DR, Gangloff M, Gay NJ. The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 8-14 [PMID: 19946286 DOI: 10.1038/nrmicro2266]
- 13 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Bil-

- liar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240]
- 14 Jiang D, Liang J, Fan J, Yu S, Chen S, Luo Y, Prestwich GD, Mascarenhas MM, Garg HG, Quinn DA, Homer RJ, Goldstein DR, Bucala R, Lee PJ, Medzhitov R, Noble PW. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nat Med* 2005; 11: 1173-1179 [PMID: 16244651]
 - 15 Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzamelis I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116: 3015-3025 [PMID: 17053832]
 - 16 Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S, Rock KL. Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat Med* 2007; 13: 851-856 [PMID: 17572686]
 - 17 Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, Karin M. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science* 2007; 317: 121-124 [PMID: 17615358]
 - 18 Erridge C. Endogenous ligands of TLR2 and TLR4: agonists or assistants? *J Leukoc Biol* 2010; 87: 989-999 [PMID: 20179153 DOI: 10.1189/jlb.1209775]
 - 19 Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511 [PMID: 15229469]
 - 20 Kolanowski ST, Dieker MC, Lissenberg-Thunissen SN, van Schijndel GM, van Ham SM, Ten Brinke A. TLR4-mediated pro-inflammatory dendritic cell differentiation in humans requires the combined action of MyD88 and TRIF. *Innate Immun* 2013 Aug 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23941760]
 - 21 Davidson-Moncada J, Papavasiliou FN, Tam W. MicroRNAs of the immune system: roles in inflammation and cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1183: 183-194 [PMID: 20146715 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05121.x]
 - 22 De Creus A, Abe M, Lau AH, Hackstein H, Raimondi G, Thomson AW. Low TLR4 expression by liver dendritic cells correlates with reduced capacity to activate allogeneic T cells in response to endotoxin. *J Immunol* 2005; 174: 2037-2045 [PMID: 15699133]
 - 23 Zarembka KA, Godowski PJ. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J Immunol* 2002; 168: 554-561 [PMID: 11777946]
 - 24 Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Compr Physiol* 2013; 3: 785-797 [PMID: 23720329 DOI: 10.1002/cphy.c120026]
 - 25 Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 571-579 [PMID: 17644211]
 - 26 Su GL, Klein RD, Aminlari A, Zhang HY, Steinstraesser L, Alarcon WH, Remick DG, Wang SC. Kupffer cell activation by lipopolysaccharide in rats: role for lipopolysaccharide binding protein and toll-like receptor 4. *Hepatology* 2000; 31: 932-936 [PMID: 10733550]
 - 27 Seki E, Tsutsui H, Nakano H, Tsuji N, Hoshino K, Adachi O, Adachi K, Futatsugi S, Kuida K, Takeuchi O, Okamura H, Fujimoto J, Akira S, Nakanishi K. Lipopolysaccharide-induced IL-18 secretion from murine Kupffer cells independently of myeloid differentiation factor 88 that is critically involved in induction of production of IL-12 and IL-1beta. *J Immunol* 2001; 166: 2651-2657 [PMID: 11160328]
 - 28 Ye D, Li FY, Lam KS, Li H, Jia W, Wang Y, Man K, Lo CM, Li X, Xu A. Toll-like receptor-4 mediates obesity-induced non-alcoholic steatohepatitis through activation of X-box binding protein-1 in mice. *Gut* 2012; 61: 1058-1067 [PMID: 22253482 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300269]
 - 29 Schwabe RF, Seki E, Brenner DA. Toll-like receptor signaling in the liver. *Gastroenterology* 2006; 130: 1886-1900 [PMID: 16697751]
 - 30 Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, Schwabe RF. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 2007; 13: 1324-1332 [PMID: 17952090]
 - 31 Machida K, Tsukamoto H, Mkrtchyan H, Duan L, Dynnyk A, Liu HM, Asahina K, Govindarajan S, Ray R, Ou JH, Seki E, Deshaies R, Miyake K, Lai MM. Toll-like receptor 4 mediates synergism between alcohol and HCV in hepatic oncogenesis involving stem cell marker Nanog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 1548-1553 [PMID: 19171902 DOI: 10.1073/pnas.0807390106]
 - 32 Paik YH, Schwabe RF, Bataller R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003; 37: 1043-1055 [PMID: 12717385]
 - 33 Zhang Z, Lin CZ, Peng LJ, Ouyang YY, Cao YR, Guo JS. [HMGB1-mediated activation of TLR4 signaling in hepatic stellate cells]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 581-584 [PMID: 23207150 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2012.08.008]
 - 34 Szabo G, Bala S, Petrasko J, Gattu A. Gut-liver axis and sensing microbes. *Dig Dis* 2010; 28: 737-744 [PMID: 21525758 DOI: 10.1159/000324281]
 - 35 Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 983-992 [PMID: 18395289 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035]
 - 36 Brun P, Castagliuolo I, Di Leo V, Buda A, Pinzani M, Palù G, Martinez D. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G518-G525 [PMID: 17023554]
 - 37 Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470-1481 [PMID: 18305141 DOI: 10.2337/db07-1403]
 - 38 Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 2557-2562 [PMID: 9122234]
 - 39 Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 343-350 [PMID: 12540784]

■应用要点
通过抑制LPS/TLR4信号途径,减轻NAFLD时肝损伤进而达到保护肝脏的目的,有望成为控制NAFLD发生发展及保护肝脏的新措施。

■同行评价

本文较系统地阐述LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用,对相关研究领域具有一定的现实意义.

- 40 Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-687 [PMID: 12713883]
- 41 Ladefoged M, Buschard K, Hansen AM. Increased expression of toll-like receptor 4 and inflammatory cytokines, interleukin-6 in particular, in islets from a mouse model of obesity and type 2 diabetes. *APMIS* 2013; 121: 531-538 [PMID: 23134512 DOI: 10.1111/apm.12018]
- 42 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772 [PMID: 17456850]
- 43 Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2010; 33: 861-868 [PMID: 20067962 DOI: 10.2337/dc09-1799]
- 44 Liang H, Hussey SE, Sanchez-Avila A, Tantiwong P, Musi N. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle. *PLoS One* 2013; 8: e63983 [PMID: 23704966 DOI: 10.1371/journal.pone.0063983]
- 45 Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2009; 50: 1094-1104 [PMID: 19637282 DOI: 10.1002/hep.23122]
- 46 Huang S, Rutkowski JM, Snodgrass RG, Ono-Moore KD, Schneider DA, Newman JW, Adams SH, Hwang DH. Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. *J Lipid Res* 2012; 53: 2002-2013 [PMID: 22766885 DOI: 10.1194/jlr.D029546]
- 47 Spruss A, Bergheim I. Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 657-662 [PMID: 19679262 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.05.006]
- 48 Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, Maier KP, Bischoff SC, Bergheim I. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr* 2008; 138: 1452-1455 [PMID: 18641190]
- 49 Guo J, Loke J, Zheng F, Hong F, Yea S, Fukata M, Tarocchi M, Abar OT, Huang H, Sninsky JJ, Friedman SL. Functional linkage of cirrhosis-predictive single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 4 to hepatic stellate cell responses. *Hepatology* 2009; 49: 960-968 [PMID: 19085953 DOI: 10.1002/hep.22697]
- 50 Shi H, Dong L, Jiang J, Zhao J, Zhao G, Dang X, Lu X, Jia M. Chlorogenic acid reduces liver inflammation and fibrosis through inhibition of toll-like receptor 4 signaling pathway. *Toxicology* 2013; 303: 107-114 [PMID: 23146752 DOI: 10.1016/j.tox.2012.10.025]
- 51 Jagavelu K, Routray C, Shergill U, O'Hara SP, Faubion W, Shah VH. Endothelial cell toll-like receptor 4 regulates fibrosis-associated angiogenesis in the liver. *Hepatology* 2010; 52: 590-601 [PMID: 20564354 DOI: 10.1002/hep.23739]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



遗传性非息肉性结直肠癌

陈昌望, 珠珠, 董坚

陈昌望, 董坚, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤内科 云南省昆明市 650032

珠珠, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤科 云南省昆明市 650032

陈昌望, 在读硕士, 主要从事遗传性结直肠癌的临床与基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160245

作者贡献分布: 本文由陈昌望与珠珠综述; 董坚审校。

通讯作者: 董坚, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤内科。

dongjian18@yahoo.com

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-08

Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

Chang-Wang Chen, Zhu Zhu, Jian Dong

Chang-Wang Chen, Jian Dong, Department of Medical Oncology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Zhu Zhu, Department of Oncology, First affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160245

Correspondence to: Jian Dong, Professor, Chief Physician, Department of Medical Oncology, First affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. dongjian18@yahoo.com

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC), also known as Lynch syndrome, is a class of autosomal dominant genetic disease. Main clinical characteristics of HNPCC include early onset age, more common in the right colon, and concomitant with simultaneous or metachronous extracolonic cancers, including endometrial cancer, stomach cancer, and ovarian cancer. However, the prognosis of HNPCC is better than sporadic colorectal cancer. Screening and intervention for HNPCC among high-risk pedigree population can effectively reduce the cancer incidence and mortality. In this article we will review the pathogenesis, epidemiology, diagnosis, screening, prevention and treatment of HNPCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer; Mismatch repair gene; Microsatellite instability; Diagnosis and screening

Chen CW, Zhu Z, Dong J. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2963-2968 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2963.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2963>

摘要

遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)又称为lynch综合征(lynch syndrome, LS)是一种常染色体显性遗传性疾病。临床特点是:发病年龄早,多见于右半结肠,伴同时性或异时性肠外恶性肿瘤如子宫内膜癌、胃癌、卵巢癌等,预后比散发性结直肠癌好。对高危家系人群的筛查和干预能有效降低结直肠及肠外恶性肿瘤的发生率和死亡率。本文对HNPCC发病机制、流行病学、临床诊断、筛查、预防和治疗做一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 遗传性非息肉性结直肠癌; 错配修复基因; 微卫星不稳定; 诊断筛查

核心提示: 随着我国家系日益小型化难以收集完整家族史资料,在临床收治工作中Bethesda指南更适用于临床初筛。对于满足Bethesda指南任意一条的患者临床医生都应当引起重视。对于所有符合临床诊断标准的患者进行IHC/MSI检测将很大程度上提高HNPCC的诊断率。

陈昌望, 珠珠, 董坚. 遗传性非息肉性结直肠癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2963-2968 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2963.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2963>

0 引言

1966年Lynch等报道了两个家族的成员中聚集性高发结直肠癌、胃癌和子宫内膜癌,并命名为“癌症家族综合征”。Lynch还把本病分为

■背景资料

遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)是一种由于错配修复基因突变导致的常染色体显性遗传性疾病,外显率约为80%,约占所有结直肠癌3%左右。

■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

■ 研发前沿

如何经济、有效筛查出HNPCC患者是目前国外的研究热点之一。

Lynch I型(家族性结直肠癌综合征, 家族呈现结直肠癌遗传)及Lynch II型(家族性癌症综合征, 家族呈现结直肠癌和其他肿瘤遗传), 后来统称为HNPCC^[1-3]. HNPCC是一种常染色体显性遗传病, 外显率约为80%^[4], 约占所有结直肠癌的3%左右^[5].

1 HNPCC的发病机制及分子生物学特征

目前研究认为DNA错配修复基因(DNA mismatch repair, *MMR*)的突变导致HNPCC^[5,6]. 已知与HNPCC发病相关的错配修复基因有以下7种*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS1*、*PMS2*、*MLH3*、*EXO1*, 其中临床最常见是*MSH2*、*MLH1*、*PMS2*、*MSH6*, 其突变率分别为38%、32%、15%和14%^[7,8]. 在HNPCC患者中携带不同的突变基因其患癌风险不尽相同. Engel等^[9]报道*MLH1*或*MSH2*突变携带者中其患癌风险高于*MSH6*, *MSH6*突变携带者患癌风险高于*PMS2*. 同散发性结直肠癌一样, 男性突变携带者罹患结直肠癌风险高于女性.

在部分患者中*MMR*启动子甲基化可能与HNPCC相关^[10,11]. Zhou等^[12]对18例未发现已知相关*MMR*突变的HNPCC家系先证者进行*MLH1*启动子甲基化检测, 发现5例先证者存在*MLH1*启动子甲基化. Morak等^[13]研究发现在HNPCC家系中存在*MLH1*启动子甲基化, 并认为携带*MLH1*启动子甲基化具有可遗传性.

90%以上的HNPCC患者检测到微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)现象^[14,15]. 微卫星DNA(microsatellite DNA)是一类短串联重复序列, 在DNA复制过程中容易发生滑动, 致使模板链或新生链可能产生一个小型环状结构. 在错配修复功能正常时很容易被修复, 如果错配修复功能缺陷, 这种“DNA环状结构”将随复制的进行而存在下去, 导致MSI产生^[16]. 约12%的散发性结直肠癌中也存在MSI, 但致病机制与HNPCC截然不同. MSI的散发性结直肠癌致病原因多与*MLH1*启动子甲基化相关且存在*BRAF*基因V600E突变^[17-22], 但是在HNPCC中尚未发现*BRAF*基因的突变^[5]. 另外40%-45%符合Amsterdam诊断标准的患者中并没有发现MSI, 基因检测也没有发现已知的*MMR*突变. 与HNPCC患者比较这类患者患结直肠癌风险低, 发病年龄较晚, 且没有证据表明肠外肿瘤的风险增高, 被称为“家族性结直肠癌X型”^[15,23,24].

2 HNPCC的临床病理特征

临床上HNPCC患者结直肠癌发病年龄早, 多在50岁以前(平均发病年龄45岁), 好发于右半结肠, 如仅采取单纯肠切除术25%-30%的患者10年内会发生异时性肠癌. 约30%患者十年之内会患上HNPCC相关的其他肿瘤^[24], 但其预后较散发性结直肠癌好^[25,26]. HNPCC患者终生患结直肠癌风险男性34%-73%、女性32%-59%, 患HNPCC相关肿瘤风险分别为子宫内膜癌39%-50%、卵巢癌7%-8%、胃癌1%-6%、输尿管/肾盂癌2%-8%、胆管癌1%-4%、小肠癌1%-4%、中枢神经系统肿瘤大约2%、胰腺癌大约4%、皮脂腺瘤取决于发生突变的*MMR*基因^[27-30]. 病理学上HNPCC患者常表现为低分化粘液腺癌或印戒细胞癌、伴肿瘤周围淋巴细胞浸润、Crohn's样淋巴反应^[24].

3 HNPCC的临床诊断标准

目前国际通用的诊断标准有Amsterdam I标准^[31]、Amsterdam II标准^[32]及Bethesda指南^[33]. Amsterdam I标准是由HNPCC国际合作组织在1991年制定的, 之后在1999年该组织对该标准做了修改称Amsterdam II. 1996年美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, USA NCI)提出了Bethesda指南, 并在2004年做了修订和简化^[5,34]: (1)结直肠癌发病早于50岁; (2)任何年龄诊断的同时和异时性多原发性结直肠癌及HNPCC相关肿瘤; (3)60岁以下结直肠癌组织学诊断发现有肿瘤浸润淋巴细胞、Crohn's样淋巴细胞增生、黏液癌/印戒细胞癌或髓样癌; (4)至少一个一级亲属发生HNPCC相关肿瘤, 且有一个肿瘤发生于50岁之前; (5)至少2个一级或二级亲属发生HNPCC相关肿瘤. 比较上述两个诊断标准Amsterdam标准诊断特异性高(达到99%)而敏感性较低(28%-45%), Bethesda指南诊断敏感性较高(73%-91%)而特异性稍低(77%-82%)^[15]. 由于Amsterdam标准在诊断上过分严格限制家族史, 且随着我国家系日益小型化难以收集完整家族史资料, 在临床收治工作中Bethesda指南更适合用于临床初筛. 对于满足Bethesda指南任意一条的患者, 临床医生都应当引起重视.

4 HNPCC的实验室筛查

HNPCC的实验室筛查手段包括有*MMR*突变检测、MSI检测及免疫组织化学检测. *MMR*突变

表 1 HNPCC诊断筛查策略

序号	HNPCC诊断筛查策略							
	IHC				MSI	BR4FV600E 突变检测	MLH1启动子 甲基化分析	MMR基因检测(诊断HNPCC金标准)
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2				
1	+	+	+	+	MSI-L/MSS	UN	UN	SCRC(对符合临床诊断标准应行突变检测)
2	+	+	+	+	MSI-H	UN	UN	MMR突变检测
3	UN	UN	UN	UN	MSI-H	UN	UN	IHC(IHC结果判断同下)或和MMR突变检测
4	-	+	+	-	UN	+	UN	SCRC
					UN	-	+	SCRC(对符合临床诊断标准应行突变检测)
					UN	-	-	MLH1突变检测
5	-	+	+	+	UN	UN	UN	MLH1突变检测
6	+	+	+	-	UN	UN	UN	PMS2基因检测没有发现时进一步行MLH1突变检测
7	+	-	-	+	UN	UN	UN	MSH2突变检测没有发现时进一步行MSH6突变检测
8	+	-	+	+	UN	UN	UN	MSH2突变检测
9	+	+	-	+	UN	UN	UN	MSH6突变检测没有发现时进一步行MSH2突变检测

所有新诊断的结直肠癌患者或者按照临床诊断标准对患者进行初筛行IHC/MSI检测。+: 蛋白表达正常或突变阳性或者MLH1启动子甲基化阳性; -: 代表蛋白表达缺失或突变阴性或者MLH1启动子甲基化阴性; UN: 未检测或者是与结果不相关; SCRC: 散发性结直肠癌。

检测是HNPCC诊断的金标准^[35], 但基因检测方法复杂和资金耗费多, 且MMR突变不存在突变热点区, 使以基因检测去筛检HNPCC存在很大困难。目前临床上多应用MSI检测和免疫组织化学的方法来确定是否发生MMR突变。

4.1 MMR的基因检测 检测MMR突变的方法包括单链多态性分析、变性凝胶电泳、蛋白截短实验、变性高效液相色谱分析、多重连接探针扩增技术及直接测序等。直接测序法敏感性和特异性最高, 但检测费用昂贵。国外报道认为多重连接探针扩增技术在检测MMR突变中更方便和经济, 而且特异性、敏感性比其他检测方法高^[36]。近年来兴起的高通量测序技术使我们对更为细致的分析MMR突变全貌成为可能^[35]。

4.2 MSI检测 MSI是HNPCC肿瘤发生的重要标志。MSI作为最早应用于实验室筛查HNPCC的分子标记, 其敏感性100%, 特异性在90%以上^[37]。经典检测MSI的方法是由NCI提出的以单碱基重复序列BAT-25和BAT-26, 双碱基序列D2S123、D5S346、D17S250这5个微卫星点作为标志物检测肿瘤。5个位点中如果出现2个及以上位点有重复序列长度的改变称为高频MSI(for high-frequency MSI, MSI-H), 只有一个位点有长度改变称为低频MSI(for low-frequency MSI, MSI-L), 无任何位点的变化称为微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)^[15,38]。

4.3 免疫组织化学 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测错配修复蛋白MLH1、MSH2、MSH6、PMS2的表达也是一种有效的

HNPCC筛查方法应用于临床^[4,39]。Shia^[40]认为免疫组织化学与MSI检测相比较敏感性相近, 但费用更为低廉, 更适用于临床筛查HNPCC患者。另外IHC结果有助于鉴别突变的基因。

5 临床诊断筛查策略

虽然我们可以通过临床诊断标准和实验室检测手段来发现HNPCC患者, 但要从众多结直肠癌患者中查筛出HNPCC犹如大海捞针。在德国只有不到一半HNPCC基因突变携带者被确诊^[5]。如何采用高效、经济、易行的筛选策略来提高HNPCC的收治率, 成为临床研究的热点之一^[41]。这些策略不仅要考虑到诊断的敏感度和特异性还需综合考虑经济、伦理学及患者的心理负担等方面的问题^[42-44]。目前国外研究表明对所有新诊断的结直肠癌和子宫内膜癌患者行IHC, MSI分析是一种经济、可行的方式^[19,45-47]如表1。2013年NCCN(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)结直肠癌指南第一版对这种广泛的筛查方式进行了推荐^[22]。

6 HNPCC的治疗和预防

目前HNPCC的治疗上, 专家推荐采用结肠次全切除术, 虽然相比于传统节段性结肠切除术其总生存率并无差异, 但次全切除术能有效减少异时性肠癌发生概率和手术风险^[48]。但对于老年患者其术后异时性肠癌发生风险低, 结肠次全切除术可能过于激进, 反而增加手术并发症和死亡率^[49]。临床研究表明对于MSI的II、III

■ 相关报道

Heald等认为对所有新诊断的肠癌患者行IHC/MSI检测来筛查HNPCC是一种经济、可行的方法。要提高HNPCC的临床收治率还需要外科医生、遗传咨询医生及患者的共同配合。

■ 创新盘点

本文对HNPCC的发病机制、流行病学、临床诊断、防治做简要介绍,以加强临床医生对其认识从而提高HNPCC的诊断率。

期结直肠癌患者并不能从以5-氟尿嘧啶为基础的辅助化疗中获益,但在HNPCC患者中是否存在相同情况需要进一步研究^[5]。欧洲肿瘤学会(European Society for Medical Oncology, ESMO)指出HNPCC化疗方案应与散发性结直肠癌一致^[48]。HNPCC的预防治疗措施应同时针对患者及高风险的家系成员。目前临床上提出的预防措施,还缺乏足够的研究证据。如预防性手术(预防性肠切除术、预防性子宫、卵巢切除术)及药物预防(阿司匹林和口服避孕药在肠息肉和子宫内膜/卵巢癌上已经分别显示出了一定的预防作用,但对于预防HNPCC相关的肠癌和子宫内膜/卵巢癌是否有效还缺少研究证据)^[48,50]。大部分专家认为每1到2年的肠镜随访能降低结直肠癌的风险^[5]。德国HNPCC联盟推荐家系成员,从25岁或者不迟于家族中最小发病年龄5年开始每年进行:一般体格检查、腹部超声检查、全结肠镜检查、胃镜检查(35岁开始)、女性患者还应进行妇科体检包含阴道超声检查、子宫内膜活检(35岁开始)^[5]。

7 结论

目前我国HNPCC发病率尚无报道。但我国人口基数大,且随着结直肠癌发病率和死亡率逐年增加,使得HNPCC的诊断、防治工作显得更加艰巨。然而在临床工作中具有遗传背景的HNPCC患者容易被漏诊,从而导致其高危家系成员丧失早期诊断和治疗的机会。在我国HNPCC的总体收治率不高的原因有以下几方面:(1)由于临床医生对HNPCC认识不足,仅有少数医疗单位在开展系统的收治和研究工作;(2)MMR蛋白免疫组织化学检测并未纳入结直肠癌术后常规检测项目;(3)HNPCC的诊断和筛查并未纳入医疗保险服务,由于经济限制患者难以接受昂贵的基因检测费用;(4)国内缺乏针对此类患者的遗传咨询服务。但随着我国经济发展,医学基础和临床研究逐渐与国际接轨,越来越多的临床医生开始认识和重视HNPCC,随着对HNPCC临床特点、遗传特征的深入研究以及基因诊断技术的不断进步,必然会推动HNPCC的预防、筛查和规范化治疗。

8 参考文献

- 1 Boland CR, Lynch HT. The history of Lynch syndrome. *Fam Cancer* 2013; 12: 145-157 [PMID: 23546821 DOI: 10.1007/s10689-013-9637-8]
- 2 Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ. Hereditary factors in cancer. Study of

two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966; 117: 206-212 [PMID: 5901552 DOI: 10.1001/archinte.117.2.206]

- 3 Lynch HT, Watson P, Kriegl M, Lynch JF, Lanspa SJ, Marcus J, Smyrk T, Fitzgibbons RJ, Cristofaro G. Differential diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome I and Lynch syndrome II). *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 372-377 [PMID: 3366037 DOI: 10.1007/BF02564888]
- 4 Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, Lajeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5783-5788 [PMID: 18809606 DOI: 10.1200/JCO.2008.17.5950]
- 5 Steinke V, Engel C, Büttner R, Schackert HK, Schmigel WH, Propping P. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC)/Lynch syndrome. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110: 32-38 [PMID: 23413378]
- 6 Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993; 260: 816-819 [PMID: 8484122 DOI: 10.1126/science.8484122]
- 7 Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med* 2009; 11: 42-65 [PMID: 19125127 DOI: 10.1097/GIM.0b013e31818fa2db]
- 8 Pai R, Wilcox R, Hart J. Molecular gastrointestinal, liver, and pancreatic pathology. *Cell and tissue based molecular pathology* 2009; 269-293 [DOI: 10.1016/B978-044306901-7.50028-6]
- 9 Engel C, Rahner N, Schulmann K, Holinski-Feder E, Goetze TO, Schackert HK, Kloor M, Steinke V, Vogelsang H, Möslin G, Görgens H, Dechant S, von Knebel Doeberitz M, Rüschoff J, Friedrichs N, Büttner R, Loeffler M, Propping P, Schmigel W. Efficacy of annual colonoscopic surveillance in individuals with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 174-182 [PMID: 19835992 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.10.003]
- 10 Goel A, Xicola RM, Nguyen TP, Doyle BJ, Sohn VR, Bandipalliam P, Rozek LS, Reyes J, Cordero C, Balaguer F, Castells A, Jover R, Andreu M, Syngal S, Boland CR and Llor X. Aberrant DNA methylation in hereditary non-polyposis colorectal cancer without mismatch repair deficiency. *Gastroenterology* 2010; 138: 1854-1862 [DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.035]
- 11 Case AS, Zigelboim I, Mutch DG, Babb SA, Schmidt AP, Whelan AJ, Thibodeau SN, Goodfellow PJ. Clustering of Lynch syndrome malignancies with no evidence for a role of DNA mismatch repair. *Gynecol Oncol* 2008; 108: 438-444 [PMID: 18022218 DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.09.036]
- 12 Zhou HH, Yan SY, Zhou XY, Du X, Zhang TM, Cai X, Lu YM, Cai SJ, Shi DR. MLH1 promoter germline-methylation in selected probands of Chinese hereditary non-polyposis colorectal cancer families. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7329-7334 [PMID: 19109866 DOI: 10.3748/wjg.14.7329]
- 13 Morak M, Schackert HK, Rahner N, Betz B, Ebert M, Walldorf C, Royer-Pokora B, Schulmann K, von Knebel-Doeberitz M, Dietmaier W, Keller G, Kerker

- B, Leitner G, Holinski-Feder E. Further evidence for heritability of an epimutation in one of 12 cases with MLH1 promoter methylation in blood cells clinically displaying HNPCC. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 804-811 [PMID: 18301449 DOI: 10.1038/ejhg.2008.25]
- 14 Lindor NM. Familial colorectal cancer type X: the other half of hereditary nonpolyposis colon cancer syndrome. *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18: 637-645 [PMID: 19793571 DOI: 10.1016/j.soc.2009.07.003]
 - 15 Pino MS, Chung DC. Application of molecular diagnostics for the detection of Lynch syndrome. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 651-665 [PMID: 20629513 DOI: 10.1586/erm.10.45]
 - 16 Sinicrope FA, Sargent DJ. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1506-1512 [PMID: 22302899 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1469]
 - 17 Mori S, Ogata Y, Shirouzu K. Biological features of sporadic colorectal carcinoma with high-frequency microsatellite instability: special reference to tumor proliferation and apoptosis. *Int J Clin Oncol* 2004; 9: 322-329 [PMID: 15375710 DOI: 10.1007/s10147-004-0406-4]
 - 18 Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2073-2087. e3 [PMID: 20420947 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.064]
 - 19 Greenon JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, Ben-Izhak O, Cohen HI, Trougouboff P, Bejhar J, Sovia Y, Pinchev M, Rennert G, Gruber SB. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 126-133 [PMID: 18830122 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817ec2b1]
 - 20 Bettstetter M, Dechant S, Ruemmele P, Vogel C, Kurz K, Morak M, Keller G, Holinski-Feder E, Hofstaedter F, Dietmaier W. MethyQESD, a robust and fast method for quantitative methylation analyses in HNPCC diagnostics using formalin-fixed and paraffin-embedded tissue samples. *Lab Invest* 2008; 88: 1367-1375 [PMID: 18936738 DOI: 10.1038/labinvest.2008.100]
 - 21 Brim H, Mokarram P, Naghibalhossaini F, Saberi-Firooz M, Al-Mandhari M, Al-Mawaly K, Al-Mjeni R, Al-Sayegh A, Raeburn S, Lee E, Giardiello F, Smoot DT, Vilkin A, Boland CR, Goel A, Hafezi M, Nouraie M, Ashktorab H. Impact of BRAF, MLH1 on the incidence of microsatellite instability high colorectal cancer in populations based study. *Mol Cancer* 2008; 7: 68 [PMID: 18718023 DOI: 10.1186/1476-4598-7-68]
 - 22 Burt RW, Barthel JS, Dunn KB, David DS, Drellichman E, Ford JM, Giardiello FM, Gruber SB, Halverson AL, Hamilton SR, Ismail MK, Jasperson K, Lazenby AJ, Lynch PM, Martin EW Jr, Mayer RJ, Ness RM, Provenzale D, Rao MS, Shike M, Steinbach G, Terdiman JP, Weinberg D; NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colorectal Cancer Screening. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8: 8-61 [PMID: 20064289]
 - 23 Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, Gallinger S, Bapat B, Aronson M, Hopper J, Jass J, LeMarchand L, Grove J, Potter J, Newcomb P, Terdiman JP, Conrad P, Moslein G, Goldberg R, Ziogas A, Anton-Culver H, de Andrade M, Siegmund K, Thibodeau SN, Boardman LA, Seminara D. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA* 2005; 293: 1979-1985 [PMID: 15855431 DOI: 10.1001/jama.293.16.1979]
 - 24 Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet* 2009; 76: 1-18 [PMID: 19659756 DOI: 10.1111/j.1399-0004.2009.01230.x]
 - 25 Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1890-1896 [PMID: 19427194 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.018]
 - 26 Hong SP, Min BS, Kim TI, Cheon JH, Kim NK, Kim H, Kim WH. The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *Eur J Cancer* 2012; 48: 1235-1243 [PMID: 22071131 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.10.005]
 - 27 Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Järvinen HJ, Myrthøj T, Sunde L, Wijnen JT, Lynch HT. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer* 2008; 123: 444-449 [PMID: 18398828 DOI: 10.1002/ijc.23508]
 - 28 Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, Wang F, Bandipalliam P, Syngal S, Gruber SB. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1621-1627 [PMID: 19622357 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.039]
 - 29 Kastrinos F, Mukherjee B, Tayob N, Wang F, Sparr J, Raymond VM, Bandipalliam P, Stoffel EM, Gruber SB, Syngal S. Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. *JAMA* 2009; 302: 1790-1795 [PMID: 19861671 DOI: 10.1001/jama.2009.1529]
 - 30 Bonadona V, Bonaïti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, Guimbaud R, Buecher B, Bignon YJ, Caron O, Colas C, Noguès C, Lejeune-Dumoulin S, Olivier-Faivre L, Polycarpe-Osaer F, Nguyen TD, Desseigne F, Saurin JC, Berthet P, Leroux D, Dufour J, Manouvrier S, Frébourg T, Sobol H, Lasset C, Bonaïti-Pellié C. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* 2011; 305: 2304-2310 [PMID: 21642682 DOI: 10.1001/jama.2011.743]
 - 31 Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424-425 [PMID: 2022152 DOI: 10.1007/BF02053699]
 - 32 Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116: 1453-1456 [PMID: 10348829 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70510-X]
 - 33 Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1758-1762 [PMID: 9392616 DOI: 10.1093/jnci/89.23.1758]

应用要点

随着对HNPCC临床特点、遗传特征的深入研究以及基因诊断技术的不断进步,必然会推动HNPCC的预防、筛查和规范化治疗。

■同行评价

本文对HNPCC的发病机制、流行病学、临床诊断及防治做了简要介绍,对本病的临床诊治起到了一定的提示作用,具有一定的临床应用价值。

- 34 Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomäki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 261-268 [PMID: 14970275 DOI: 10.1093/jnci/djh034]
- 35 Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, Hopper JL, Le Marchand L, Gallinger S, Newcomb PA, Haile R, Thibodeau SN, Gunawardena S, Jenkins MA, Buchanan DD, Potter JD, Baron JA, Ahnen DJ, Moreno V, Andreu M, Ponz de Leon M, Rustgi AK, Castells A. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 2012; 308: 1555-1565 [PMID: 23073952 DOI: 10.1001/jama.2012.13088]
- 36 Gomez LC, Marzese DM, Adi J, Bertani D, Ibarra J, Mol B, Vos IJ, De Marchi G, Roqué M. MLPA mutation detection in Argentine HNPCC and FAP families. *Fam Cancer* 2009; 8: 67-73 [PMID: 18615272 DOI: 10.1007/s10689-008-9200-1]
- 37 Bonis PA, Trikalinos TA, Chung M, Chew P, Ip S, DeVine DA, Lau J. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: diagnostic strategies and their implications. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2007; (150): 1-180 [PMID: 17764220]
- 38 Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 5248-5257 [PMID: 9823339]
- 39 Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, Walsh-Vockley C, Petersen GM, Walsh MD, Leggett BA, Young JP, Barker MA, Jass JR, Hopper J, Gallinger S, Bapat B, Redston M, Thibodeau SN. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1043-1048 [PMID: 11844828 DOI: 10.1200/JCO.20.4.1043]
- 40 Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 2008; 10: 293-300 [PMID: 18556767 DOI: 10.2353/jmoldx.2008.080031]
- 41 Dinh TA, Rosner BI, Atwood JC, Boland CR, Syngal S, Vasen HF, Gruber SB, Burt RW. Health benefits and cost-effectiveness of primary genetic screening for Lynch syndrome in the general population. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4: 9-22 [PMID: 21088223 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0262]
- 42 Ladabaum U, Ford JM. Lynch syndrome in patients with colorectal cancer: finding the needle in the haystack. *JAMA* 2012; 308: 1581-1583 [PMID: 23073955 DOI: 10.1001/jama.2012.14171]
- 43 Landsbergen KM, Prins JB, Brunner HG, Kraaijaat FW, Hoogerbrugge N. Genetic testing for Lynch syndrome in the first year of colorectal cancer: a review of the psychological impact. *Fam Cancer* 2009; 8: 325-337 [PMID: 19330464 DOI: 10.1007/s10689-009-9239-7]
- 44 Landsbergen KM, Prins JB, Brunner HG, van Duijvendijk P, Nagengast FM, van Krieken JH, Ligtenberg M, Hoogerbrugge N. Psychological distress in newly diagnosed colorectal cancer patients following microsatellite instability testing for Lynch syndrome on the pathologist's initiative. *Fam Cancer* 2012; 11: 259-267 [PMID: 22311584 DOI: 10.1007/s10689-012-9510-1]
- 45 Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, French AJ, Kabat B, Foster NR, Torri V, Ribic C, Grothey A, Moore M, Zaniboni A, Seitz JF, Sinicrope F, Gallinger S. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3219-3226 [PMID: 20498393 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.1825]
- 46 Ladabaum U, Wang G, Terdiman J, Blanco A, Kupermann M, Boland CR, Ford J, Elkin E, Phillips KA. Strategies to identify the Lynch syndrome among patients with colorectal cancer: a cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2011; 155: 69-79 [PMID: 21768580 DOI: 10.1059/0003-4819-155-2-201107190-00002]
- 47 Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, Nordlinger B, van de Velde CJ, Balmana J, Regula J, Nagtegaal ID, Beets-Tan RG, Arnold D, Ciardiello F, Hoff P, Kerr D, Köhne CH, Labianca R, Price T, Scheithauer W, Sobrero A, Tabernero J, Aderka D, Barroso S, Bodoky G, Douillard JY, El Ghazaly H, Gallardo J, Garin A, Glynn-Jones R, Jordan K, Meshcheryakov A, Papamichail D, Pfeiffer P, Souglakos I, Turhal S, Cervantes A. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer: a personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol* 2012; 23: 2479-2516 [PMID: 23012255 DOI: 10.1093/annonc/mds236]
- 48 Natarajan N, Watson P, Silva-Lopez E, Lynch HT. Comparison of extended colectomy and limited resection in patients with Lynch syndrome. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 77-82 [PMID: 20010355 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181c702de]
- 49 Alvaro E, Perea J, Lomas M, Urioste M, Hidalgo M. [Influence of age on the surgical treatment of lynch syndrome]. *Cir Esp* 2010; 88: 338-340 [PMID: 20334855 DOI: 10.1016/j.ciresp.2009.12.022]
- 50 Márquez MF, Duarte AR, Ibáñez VM, Lozano RB, Gil FR, Sierra IB, Morales Mdel M. [Lynch syndrome: genetics and surgery]. *Cir Esp* 2011; 89: 3-9 [PMID: 21176896 DOI: 10.1016/j.ciresp.2010.06.010]
- 51 Heald B, Plesac T, Liu X, Pai R, Patil D, Moline J, Sharp RR, Burke CA, Kalady MF, Church J, Eng C. Implementation of universal microsatellite instability and immunohistochemistry screening for diagnosing lynch syndrome in a large academic medical center. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1336-1340 [PMID: 23401454 DOI: 10.1200/JCO.2012.45.1674]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Oct4基因在消化系肿瘤中的研究进展

黎江, 文坤明, 曾庆良

黎江, 文坤明, 曾庆良, 遵义医学院附属医院胃肠外科 贵州省遵义市 563000

黎江, 遵义医学院附属医院胃肠外科研究生, 住院医师, 主要从事大肠癌的诊断及治疗研究.

贵州省科学技术基金资助项目, No. 黔科合J字[2012]2365

国家自然科学基金资助项目, No. 81260369

作者贡献分布: 本文文献检索、资料分析及撰写由黎江完成; 文坤明协助; 曾庆良指导及审核.

通讯作者: 曾庆良, 教授, 563000, 贵州省遵义市汇川区大连路海鸿小区, 遵义医学院附属医院胃肠外科.

zengql200611@yahoo.com

收稿日期: 2013-07-10 修回日期: 2013-07-24

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of Oct4 in gastrointestinal tumors

Jiang Li, Kun-Ming Wen, Qing-Liang Zeng

Jiang Li, Kun-Ming Wen, Qing-Liang Zeng, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Guizhou Province, No. Qian He J Zi [2012]2365; National Natural Science Foundation of China, No. 81260369

Correspondence to: Qing-Liang Zeng, Professor, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Haihong Community, Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. zengql200611@yahoo.com

Received: 2013-07-10 Revised: 2013-07-24

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

Octamer-binding transcription factor 4 (Oct4), a member of the POU transcription factor family, is one of the most important transcription factors for maintaining pluripotent and self-renewing state of stem cells. Oct4 is expressed not only in embryonic stem cells, germ cells and germ cell tumors but also in a variety of somatic cells of malignant tumors. The expression of Oct4 is closely related to the development and prognosis of malignant tumors. Therefore, detection of Oct4 expression has great significance in the diagnosis and treatment of tumors. This article provides a brief review of the role of Oct4 in gastrointestinal tumors.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oct4; Gastrointestinal tumors; Diagnosis; Treatment; Prognosis

Li J, Wen KM, Zeng QL. Role of Oct4 in gastrointestinal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2969-2974
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2969.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2969>

摘要

八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, Oct4)基因是POU转录因子家族中的一员, 是维持干细胞多潜能性和自我更新的最重要转录因子之一. Oct4不仅在胚胎干细胞和生殖细胞及其肿瘤中有表达, 且在多种体细胞恶性肿瘤中也均有表达现象, 与恶性肿瘤患者的发生发展及临床预后存在密切的关系, 对肿瘤的诊断及治疗有着深远的影响. 本文就Oct4在消化系肿瘤中的作用及机制方面的研究给予综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 八聚体结合转录因子4; 消化系肿瘤; 诊断; 治疗; 预后

核心提示: 研究表明八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, Oct4)参与了消化系肿瘤的发生发展及耐药, 影响患者预后及生存, 而Oct4是干细胞中最重要的转录因子, 因此推测Oct4可能通过WNT/ β -catenin、TCL1-AKT-ABCG2、STAT3/Survivin通路影响肿瘤干细胞的活性发挥作用, 从而可能成为肿瘤的诊断治疗的新靶点.

黎江, 文坤明, 曾庆良. Oct4基因在消化系肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2969-2974 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2969.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2969>

0 引言

消化系肿瘤的发病率及死亡率在国内外肿瘤病例中居高不下, 已成为人类肿瘤患者的头号杀手. 近期研究显示肿瘤的发生发展与肿瘤干细

■背景资料

八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, Oct4)是干细胞中最重要的转录因子之一, 对干细胞的增殖、凋亡起着重要的调节作用, 大量研究显示Oct4在消化系肿瘤中普遍高表达, 参与肿瘤的发生发展、化疗抵抗以及影响患者预后及生存, 其机制可能是参与肿瘤干细胞的调节而发挥作用.

■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■ 研发前沿

当前研究重点是明确Oct4与肿瘤干细胞的关系,在肿瘤的发生发展、耐药性等方面中的主要调节机制,为消化系统肿瘤的诊断及治疗提供新的靶点。

细胞有关,通过抑制肿瘤干细胞的生长可减少肿瘤的发生,提高病人的生存率,因此干细胞相关基因在肿瘤的研究中一直是个热门话题。八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcription-factor 4, *Oct4*)属于POU(Pit-Oct-Unic)蛋白家族,该基因也称为*Oct3/4*、*POU5F1*、*OTF3*、*OTF4*,其编码基因*POU5F1*位于6号染色体短臂6p21.33区^[1]。*Oct4*基因通过与启动子区的八聚体基序(结构为ATTTGCAT序列)特异性结合调控基因表达,是胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)维持自我更新及分化潜能的最重要的转录因子^[2],也是胚胎干细胞的标志物^[3]。近年,随着对Oct4的不断深入研究,科研重点也从ESC向肿瘤活体组织及肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)逐渐延伸。通过PCR和免疫组织化学研究对比肿瘤及正常组织发现,Oct4不仅在胚胎细胞、生殖细胞及其肿瘤中高表达^[4,5],而且近年研究^[6-12]显示Oct4普遍在消化系肿瘤中有表达,且癌组织中的表达明显高于癌旁及正常组织($P<0.05$)。此外,肿瘤细胞中异位表达的Oct4结果是细胞去分化和增强如肿瘤耐药性、致瘤性以及类似干细胞性质的球体细胞形成^[13,14],增加了肿瘤复发及治疗难度,严重威胁肿瘤患者的生存及生活质量^[15,16]。本文就Oct4在消化系恶性肿瘤中的功能及可能机制作一综述。

1 Oct4在消化系肿瘤中发挥的作用

研究表明Oct4不仅参与肿瘤的发生发展,且在肿瘤的化疗抵抗性方面发挥着重要的作用,进而影响患者的预后及生存。具体原因可能与Oct4在肿瘤干细胞(CSCs)中不可取代的地位有密切的关系。以下为Oct4在消化系肿瘤中的相关功能。

1.1 参与肿瘤的发生 肿瘤的发生是一个多因素、多步骤的过程,其中*K-ras*基因突变是多种肿瘤发生早期的一个标志基因^[16],在Oct4及Nanog表达阳性的仓鼠胰腺癌模型中,通过基因芯片分析发现*K-ras*基因的突变发生于Oct4表达之后^[12],利用免疫组织化学检测发现Oct4只在少部分的胰岛细胞的胞质中表达,而在早期胰腺癌细胞核中均有所表达,且两者具有统计学意义^[17],从体外胰腺癌模型中可以推断Oct4和Nanog等同源性转录因子在胰腺癌致癌作用的早期阶段发挥着重要的作用。从胃炎到化生再到胃癌的多步骤致癌模型中,Oct4的表达随着组织恶化的各阶段逐渐提高($P<0.05$),因此推测Oct4参与胃癌的恶性形成过程^[18]。

1.2 参与肿瘤的浸润、转移 越来越多的研究表明,上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与上皮细胞恶性肿瘤的浸润、转移关系密切,特别是在胃肠道肿瘤中更加显著^[19],其主要表现为上皮细胞表型发生改变,转变为间充质细胞,而后者具有较高的迁移、侵袭和降解细胞外基质能力,从而使细胞发生侵袭、转移。Dai等^[20]通过Oct4-shRNA-LV下调大肠癌Oct4的表达后,发现能诱导EMT特征性细胞的形态及其标志基因表达的下调,在体外减慢了癌细胞的运动、侵袭性,在体内降低了肝脏移植率,且他们发现Oct4在伴有肝转移的大肠癌患者中比未伴肝转移的患者明显高表达,因此推测大肠癌细胞的侵袭、转移可能是通过Oct4调节EMT而发挥作用,Oct4可作为预测大肠癌患者是否有肝转移危险性的标志。另有统计分析表明,Oct4也参与了肝癌^[21]、食管癌^[22]、胰腺癌^[23]的浸润转移。但Chen等^[6]在胃癌术后组织中发现,Oct4的表达与胃癌患者肿瘤侵入深度或是否出现淋巴结转移无统计学意义,因此Oct4是否参与消化系肿瘤的浸润、转移还有待进一步的研究。

1.3 参与耐药 Zhang等^[24]通过普通食管癌细胞培育出悬浮肿瘤细胞球,对比普通贴壁肿瘤细胞发现前者Oct4明显高表达的同时对顺铂具有更高的耐药性,进一步研究显示球体细胞中耐药基因(*ABCG2*、*MDR1*)过表达,推测Oct4与耐药基因及肿瘤的耐药呈正相关性,Oct4参与肿瘤耐药研究在胰腺癌的中也有类似报道^[25]。另外,有学者^[26]通过化疗药物从低浓度到高浓度过程构建肝癌耐药细胞株,发现此耐药细胞与肝癌细胞相比,Oct4和ABCG2呈过表达状态,且两者具有统计学意义,因此推测Oct4参与ABCG2的调节使肝癌耐药,从而影响肿瘤化疗效果。在对肝癌以外消化系肿瘤的统计学分析发现,Oct4可作为大肠癌对化疗敏感性的相关检测因子^[27],可为临床治疗提供治疗前疗效参考。

1.4 影响患者预后及生存率 有学者在对食管癌患者术后标本进行检测时发现Oct4在癌组织中有不同程度的表达,通过与患者预后进行统计分析显示Oct4基因的表达水平与患者不良预后有关($P<0.05$)^[11],且可作为临床患者生存时间的单独预测因子^[28]。Saigusa等^[29]研究发现CD133、Oct4和SOX2的表达水平不仅可以作为直肠癌患者手术预后的标准,还可对直肠癌远处复发、转移有警示的价值。另有研究^[7]证实Oct4在肝癌患者中的阳性表达可能是组织的低分化

和肿瘤复发的原因, 从而影响患者预后, Oct4与Nanog可作为术后复发的单独预测因子^[21]. 通过Kaplan-Meier法生存曲线研究分析得出Oct4中重要的一个亚型Oct4A表达阳性的肝癌患者总体生存率较低^[30]. 以上研究表明Oct4能影响消化系统肿瘤患者的预后及生存率.

1.5 维持肿瘤干细胞存活 CSCs是肿瘤细胞中具有自我更新、多分化潜能等干细胞特性的一小部分细胞, 参与肿瘤的发生及发展, 促进肿瘤的生长, 增强肿瘤的耐药能力, 影响肿瘤患者的生存及预后^[31,32]. 将少量CSCs接种免疫缺陷小鼠可形成明显的瘤体, 而普通肿瘤细胞却基本不能形成肿瘤^[33]. Oct4是干细胞最重要的转录因子, 与干细胞功能和活性密切相关^[34], 因此Oct4与肿瘤干细胞生物学功能的关系近年备受研究者青睐. 有学者^[9]在富集CSCs的大肠癌耐药细胞中发现Oct4普遍高表达, 通过干扰Oct4的表达后, 结果发现肿瘤细胞的凋亡增加, 干细胞标志物CD44、CD133减少, 将Oct4干扰后富集CSCs的大肠癌耐药细胞与相同数量的未处理大肠癌耐药细胞接种NOD/SCID小鼠, 发现后者成瘤率比实验组高, 且瘤体的体积较后者大($P<0.05$). 推测Oct4可能通过维持CSCs活性、控制其转录, 从而参与消化系统肿瘤的发生发展、降低治疗效果、影响患者预后生存.

2 Oct4在消化系统肿瘤中的信号通路

2.1 WNT/ β -catenin及TGF- β 信号通路 经典WNT信号通路是由于WNT信号进入细胞内后, 将信号传递给Gsh, 活化的Gsh抑制Axin、APC和GSK-3 β 复合物的活性, 使 β -catenin不能被GSK-3 β 磷酸化, 在胞质中积聚, 并移向核内, 然后与TCF/LEF转录因子结合, 激活TCF转录活性, 调节靶基因的表达^[35]. 该通路在正常情况下呈关闭状态, 当WNT通路激活后, 细胞会发生异常的增殖、分化, 最终导致肿瘤的形成. 有学者在消化系统肿瘤以外研究中曾报道Oct4与WNT/ β -catenin存在调控关系^[4,36]. Yuan等^[37]在肝癌组织及细胞系中研究发现Oct4与WNT/ β -catenin及TGF- β 信号通路相关基因的表达存在密切的关联, 通过下调Oct4的表达后, TGF- β 家族(ELF, Smad3, Smad4)和WNT/ β -catenin家族(WNT10b、 β -catenin)的表达降低, 而TCF3却上升, 抑制TCF3后Oct4和TGF- β 家族表达增加, 因此, Oct4可能在TGF- β 与WNT/ β -catenin信号通路中起到调节作用. Dai等^[20]发现Oct4表达抑制后的大肠

癌细胞WNT通路活性降低, 认为Oct4可能在该信号通路中扮演开关的角色. 但Kitisin^[38]研究发现在Oct4阳性的肝癌组织中TGF- β R2、ELF阴性, 推测Oct4阳性而TGF- β 信号缺失的癌细胞可能是肝癌发生的癌祖细胞. 因此, Oct4与WNT/ β 及TGF- β 信号通路是正调节还是负调节关系, 在体内外研究中还存在一定的争议, 有待进一步研究阐明.

2.2 Oct4-TCL1-AKT和Oct4-TCL1-AKT-ABCG2途径 研究发现Oct4共转录能调节T细胞白血病/淋巴瘤1A, 进一步激活AKT信号通路从而调节胚胎干细胞的增殖^[39], 另Oct4-TCL1-AKT可通过阻止干细胞样肿瘤细胞的凋亡影响其生存^[40], 且AKT信号通路也可通过ABCG2的调控和定位调节部分肿瘤侧群细胞^[41], 将化疗药物及毒素通过主动及胞吐作用排出胞外, 避免药物及毒素对细胞的伤害, 从而产生耐药性. 有学者在肝癌细胞中发现过表达的Oct4能诱导激活TCL1, 进而诱导AKT的活性增加, 因此推测Oct4可能通过Oct4-TCL1-AKT途径在癌细胞的耐药中发挥作用, 进一步研究发现在肿瘤耐药细胞及Oct4过表达的细胞中ABCG2表达明显高于对照组($P<0.05$), 且Oct4的上调与AKT和ABCG2的增高有显著相关性, 抑制Oct4和ABCG2后可增加肿瘤细胞对药物的敏感性, 而且抑制Oct4后ABCG2有不同程度的下调, 总之认为Oct4与ABCG2存在密切的关系. 另外, 通过添加PI3K/AKT通路抑制剂LY294002后发现, 不但AKT活性降低, 而且ABCG2的表达水平也下调, 推测Oct4也可能通过Oct4-TCL1-AKT-ABCG2或者联合Oct4-TCL1-AKT途径在肝癌的生存及耐药性中扮演调节的作用^[42].

2.3 STAT3/Survivin通路 信号传导与转录激活因子-3(signal transducer and activator of transcription-3, STAT3)已被证实是肿瘤的生存与凋亡以及ESC存活的调节器^[43]. STAT3在肿瘤的形成中起着非常重要的角色, 例如STAT3的构成赋予一些恶性肿瘤抵抗化疗药物诱导凋亡的作用. 通过抑制STAT3的表达后, 可以增强肝癌、胰腺癌、胃癌等对化疗药物的敏感性^[44-46]. 另有报道STAT3在干细胞样大肠癌细胞中具有维持细胞生存和肿瘤形成的能力^[47]. 而Survivin通过IL-4(interleukin-4)信号途径维持大肠癌干细胞抗凋亡作用^[48]. Wen等^[9]使用奥沙利铂在大肠癌细胞中建立其耐药细胞, 发现Oct4过表达的同时STAT3和Survivin也明显表达, 通过Oct4-shRNA-

■相关报道

近几年, Oct4在干细胞和肿瘤组织的研究较多, 但在消化系统肿瘤干细胞的研究还很局限, 在其信号传导通路研究方面更是凤毛麟角.

■创新盘点

本综述主要介绍了Oct4在消化系统肿瘤中的功能、与消化系统肿瘤干细胞的大概关系及其可能机制,对临床及实验工作都有较大参考价值。

LV沉默Oct4表达后发现细胞凋亡增加, STAT3、P-STAT3及Survivin下调, 因此推测Oct4参与大肠癌的耐药性可能与STAT3/Survivin信号途径有关。

3 结论

在消化系统肿瘤中研究发现, Oct4与肿瘤的发生发展、侵袭转移及预后复发都有密切的关系, 通过抑制Oct4表达后肿瘤的恶性性质得到一定的控制, 可能是通过WNT/ β -catenin、TCL1-AKT-ABCG2、STAT3/Survivin通路影响肿瘤干细胞的活性发挥作用, 为今后肿瘤的治疗研究提供了一定实验及理论基础。由于消化系统肿瘤类型多样且各部位肿瘤的研究大多以细胞实验为主, 而细胞的研究涉及个人操作及实验室条件等较多影响因素, 以及因细胞中假基因转录和DNA污染的存在使Oct4假阳性率明显增高^[49,50], 这使得该基因在决定肿瘤恶性性质的解释变得复杂多样。因此, Oct4在消化系统肿瘤的临床应用中还不具备诊断及治疗指标的价值, 尚需更深层次的研究。另外, Oct4在肿瘤中的调控作用呈一个庞大的网络体系, 其在肿瘤恶性程度中发挥主要作用的主要通路还前途未卜, 且其各条通路是否相互影响需更深入的研究。最后, 根据其不同剪切体表达部位、功能以及信号途径的不同, 其在消化系统肿瘤的发生、发展以及治疗的相关性也有待进一步的研究, 为甄选出可靠的临床筛查、诊断及治疗的靶向分子标志和肿瘤的研究提供新的思路及理论。

4 参考文献

- 1 Cauffman G, Liebaers I, Van Steirteghem A, Van de Velde H. POU5F1 isoforms show different expression patterns in human embryonic stem cells and preimplantation embryos. *Stem Cells* 2006; 24: 2685-2691 [PMID: 16916925 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0611]
- 2 Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, Guenther MG, Kumar RM, Murray HL, Jenner RG, Gifford DK, Melton DA, Jaenisch R, Young RA. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell* 2005; 122: 947-956 [PMID: 16153702 DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.020]
- 3 Kang J, Shakya A, Tantin D. Stem cells, stress, metabolism and cancer: a drama in two Octs. *Trends Biochem Sci* 2009; 34: 491-499 [PMID: 19733480 DOI: 10.1016/j.tibs.2009.06.003]
- 4 Ezech UI, Turek PJ, Reijo RA, Clark AT. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer* 2005; 104: 2255-2265 [PMID: 16228988 DOI: 10.1002/cncr.21432]
- 5 Sheikine Y, Genega E, Melamed J, Lee P, Reuter VE, Ye H. Molecular genetics of testicular germ cell tumors. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 153-167 [PMID: 22432056]
- 6 Chen Z, Xu WR, Qian H, Zhu W, Bu XF, Wang S, Yan YM, Mao F, Gu HB, Cao HL, Xu XJ. Oct4, a novel marker for human gastric cancer. *J Surg Oncol* 2009; 99: 414-419 [PMID: 19347886 DOI: 10.1002/jso.21270]
- 7 Dong Z, Zeng Q, Luo H, Zou J, Cao C, Liang J, Wu D, Liu L. Increased expression of OCT4 is associated with low differentiation and tumor recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Pathol Res Pract* 2012; 208: 527-533 [PMID: 22824146 DOI: 10.1016/j.prp.2012.05.019]
- 8 Wang Q, He W, Lu C, Wang Z, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Oct3/4 and Sox2 are significantly associated with an unfavorable clinical outcome in human esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 1233-1241 [PMID: 19414369]
- 9 Wen K, Fu Z, Wu X, Feng J, Chen W, Qian J. Oct-4 is required for an antiapoptotic behavior of chemoresistant colorectal cancer cells enriched for cancer stem cells: effects associated with STAT3/Survivin. *Cancer Lett* 2013; 333: 56-65 [PMID: 23340171 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.01.009]
- 10 Gazouli M, Roubelakis MG, Theodoropoulos GE, Papailiou J, Vaipoulou A, Pappa KL, Nikiteas N, Anagnou NP. OCT4 spliced variant OCT4B1 is expressed in human colorectal cancer. *Mol Carcinog* 2012; 51: 165-173 [PMID: 21480394 DOI: 10.1002/mc.20773]
- 11 He W, Li K, Wang F, Qin YR, Fan QX. Expression of OCT4 in human esophageal squamous cell carcinoma is significantly associated with poorer prognosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 712-719 [PMID: 22363145 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.712]
- 12 Wen J, Park JY, Park KH, Chung HW, Bang S, Park SW, Song SY. Oct4 and Nanog expression is associated with early stages of pancreatic carcinogenesis. *Pancreas* 2010; 39: 622-626 [PMID: 20173672 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181c75f5e]
- 13 Eckardt S, Leu NA, Kurosaka S, McLaughlin KJ. Differential reprogramming of somatic cell nuclei after transfer into mouse cleavage stage blastomeres. *Reproduction* 2005; 129: 547-556 [PMID: 15855618 DOI: 10.1530/rep.1.00673]
- 14 Santagata S, Ligon KL, Hornick JL. Embryonic stem cell transcription factor signatures in the diagnosis of primary and metastatic germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 836-845 [PMID: 17527070 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31802e708a]
- 15 Ge N, Lin HX, Xiao XS, Guo L, Xu HM, Wang X, Jin T, Cai XY, Liang Y, Hu WH, Kang T. Prognostic significance of Oct4 and Sox2 expression in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *J Transl Med* 2010; 8: 94 [PMID: 20937145 DOI: 10.1186/1479-5876-8-94]
- 16 Taketomi A, Shirabe K, Muto J, Yoshiya S, Motomura T, Mano Y, Ikegami T, Yoshizumi T, Sugio K, Maehara Y. A rare point mutation in the Ras oncogene in hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 2013; 43: 289-292 [PMID: 23266750 DOI: 10.1007/s00595-012-0462-8]
- 17 Iki K, Pour PM. Expression of Oct4, a stem cell marker, in the hamster pancreatic cancer model. *Pancreatol* 2006; 6: 406-413 [PMID: 16809941 DOI: 10.1007/s00595-012-0462-8]

- 10.1159/000094317]
- 18 Von Tigerstrom RG, Manchak JM. Isolation and characterization of two alkaline ribonucleases from calf serum. *Biochim Biophys Acta* 1976; 418: 184-194 [PMID: 2292 DOI: 10.3892/ijo.2012.1608]
- 19 Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol* 2006; 172: 973-981 [PMID: 16567498 DOI: 10.1083/jcb.200601018]
- 20 Dai X, Ge J, Wang X, Qian X, Zhang C, Li X. OCT4 regulates epithelial-mesenchymal transition and its knockdown inhibits colorectal cancer cell migration and invasion. *Oncol Rep* 2013; 29: 155-160 [PMID: 23076549]
- 21 Yin X, Li YW, Zhang BH, Ren ZG, Qiu SJ, Yi Y, Fan J. Coexpression of stemness factors Oct4 and Nanog predict liver resection. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2877-2887 [PMID: 22461131 DOI: 10.1245/s10434-012-2314-6]
- 22 Zhou X, Huang GR, Hu P. Over-expression of Oct4 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cells* 2011; 32: 39-45 [PMID: 21547540 DOI: 10.1007/s10059-011-2315-5]
- 23 Quint K, Tonigold M, Di Fazio P, Montalbano R, Lingelbach S, Rückert F, Alinger B, Ocker M, Neureiter D. Pancreatic cancer cells surviving gemcitabine treatment express markers of stem cell differentiation and epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol* 2012; 41: 2093-2102 [PMID: 23026911]
- 24 Zhang G, Ma L, Xie YK, Miao XB, Jin C. Esophageal cancer tumorspheres involve cancer stem-like populations with elevated aldehyde dehydrogenase enzymatic activity. *Mol Med Rep* 2012; 6: 519-524 [PMID: 22684859]
- 25 Wang D, Zhu H, Zhu Y, Liu Y, Shen H, Yin R, Zhang Z, Su Z. CD133(+)/CD44(+)/Oct4(+)/Nestin(+) stem-like cells isolated from Panc-1 cell line may contribute to multi-resistance and metastasis of pancreatic cancer. *Acta Histochem* 2013; 115: 349-356 [PMID: 23036582 DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.007]
- 26 Jia Q, Zhang X, Deng T, Gao J. Positive correlation of Oct4 and ABCG2 to chemotherapeutic resistance in CD90(+)/CD133(+) liver cancer stem cells. *Cell Reprogram* 2013; 15: 143-150 [PMID: 23438193 DOI: 10.1089/cell.2012.0048]
- 27 Padín-Iruegas ME, Herranz-Carnero M, Aguilosada S, Brozos-Vazquez E, Anido-Herranz U, Antunez-Lopez JR, Ruibal-Morell A, López-López R. Prognostic value of changes in the expression of stem cell markers in the peripheral blood of patients with colon cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 2467-2472 [PMID: 23545848 DOI: 10.3892/or.2013.2368]
- 28 Li C, Yan Y, Ji W, Bao L, Qian H, Chen L, Wu M, Chen H, Li Z, Su C. OCT4 positively regulates Survivin expression to promote cancer cell proliferation and leads to poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e49693 [PMID: 23185410 DOI: 10.1371/journal.pone.0049693]
- 29 Saigusa S, Tanaka K, Toiyama Y, Yokoe T, Okugawa Y, Ioue Y, Miki C, Kusunoki M. Correlation of CD133, OCT4, and SOX2 in rectal cancer and their association with distant recurrence after chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3488-3498 [PMID: 19657699 DOI: 10.1245/s10434-009-0617-z]
- 30 Huang PZ, Lu CL, Li BK, Hong J, Huang L, Wang L, Zhang Y, Yuan YF. [OCT4 expression in hepatocellular carcinoma and its clinical significance]. *Chin J Cancer* 2010; 29: 111-116 [PMID: 20038322]
- 31 Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, Iglesias M, Céspedes MV, Rossell D, Sevilano M, Hernandez-Momblona X, da Silva-Diz V, Muñoz P, Clevers H, Sancho E, Mangues R, Batlle E. The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 511-524 [PMID: 21419747 DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.020]
- 32 Hsu W, Mohyeldin A, Shah SR, Gokaslan ZL, Quinones-Hinojosa A. Role of cancer stem cells in spine tumors: review of current literature. *Neurosurgery* 2012; 71: 117-125 [PMID: 22418583 DOI: 10.1227/NEU.0b013e3182532e71]
- 33 Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 389-402 [PMID: 18371377 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.001]
- 34 Chen YC, Hsu HS, Chen YW, Tsai TH, How CK, Wang CY, Hung SC, Chang YL, Tsai ML, Lee YY, Ku HH, Chiou SH. Oct-4 expression maintained cancer stem-like properties in lung cancer-derived CD133-positive cells. *PLoS One* 2008; 3: e2637 [PMID: 18612434 DOI: 10.1371/journal.pone.0002637]
- 35 Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149: 1192-1205 [PMID: 22682243 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012]
- 36 Davidson KC, Adams AM, Goodson JM, McDonald CE, Potter JC, Berndt JD, Biechele TL, Taylor RJ, Moon RT. Wnt/ β -catenin signaling promotes differentiation, not self-renewal, of human embryonic stem cells and is repressed by Oct4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 4485-4490 [PMID: 22392999 DOI: 10.1073/pnas.1118777109]
- 37 Yuan F, Zhou W, Zou C, Zhang Z, Hu H, Dai Z, Zhang Y. Expression of Oct4 in HCC and modulation to wnt/ β -catenin and TGF- β signal pathways. *Mol Cell Biochem* 2010; 343: 155-162 [PMID: 20549546 DOI: 10.1007/s11010-010-0509-3]
- 38 Kitisin K, Ganesan N, Tang Y, Jogunoori W, Volpe EA, Kim SS, Katuri V, Kallakury B, Pishvaian M, Albanese C, Mendelson J, Zasloff M, Rashid A, Fishbein T, Evans SR, Sidawy A, Reddy EP, Mishra B, Johnson LB, Shetty K, Mishra L. Disruption of transforming growth factor-beta signaling through beta-spectrin ELF leads to hepatocellular cancer through cyclin D1 activation. *Oncogene* 2007; 26: 7103-7110 [PMID: 17546056 DOI: 10.1038/sj.onc.1210513]
- 39 Matoba R, Niwa H, Masui S, Ohtsuka S, Carter MG, Sharov AA, Ko MS. Dissecting Oct3/4-regulated gene networks in embryonic stem cells by expression profiling. *PLoS One* 2006; 1: e26 [PMID: 17183653 DOI: 10.1371/journal.pone.0000026]
- 40 Hu T, Liu S, Breiter DR, Wang F, Tang Y, Sun S. Octamer 4 small interfering RNA results in cancer stem cell-like cell apoptosis. *Cancer Res* 2008; 68: 6533-6540 [PMID: 18701476 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6642]
- 41 Mogi M, Yang J, Lambert JF, Colvin GA, Shiojima I, Skurk C, Summer R, Fine A, Quesenberry PJ, Walsh K. Akt signaling regulates side population cell phenotype via Bcrp1 translocation. *J Biol Chem* 2003;

■应用要点

Oct4是近期消化系统肿瘤及其干细胞研究的一个热点,明确Oct4在消化系统肿瘤中的作用及机制后,将为消化系统肿瘤的治疗及进一步研究提供新的靶点。

■同行评价

本文对*Oct4*基因在消化系肿瘤中的研究进展进行了综述,具有一定指导意义。

- 278: 39068-39075 [PMID: 12851395 DOI: 10.1074/jbc.M306362200]
- 42 Wang XQ, Ongkeko WM, Chen L, Yang ZF, Lu P, Chen KK, Lopez JP, Poon RT, Fan ST. Octamer 4 (Oct4) mediates chemotherapeutic drug resistance in liver cancer cells through a potential Oct4-AKT-ATP-binding cassette G2 pathway. *Hepatology* 2010; 52: 528-539 [PMID: 20683952 DOI: 10.1002/hep.23692]
- 43 Glienke W, Hausmann E, Bergmann L. Down-regulation of STAT3 signaling induces apoptosis but also promotes anti-apoptotic gene expression in human pancreatic cancer cell lines. *Tumour Biol* 2011; 32: 493-500 [PMID: 21174186 DOI: 10.1007/s13277-010-0143-4]
- 44 Kim JH, Lee SC, Ro J, Kang HS, Kim HS, Yoon S. Jnk signaling pathway-mediated regulation of Stat3 activation is linked to the development of doxorubicin resistance in cancer cell lines. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 373-380 [PMID: 19766599 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.09.008]
- 45 Huang S, Chen M, Shen Y, Shen W, Guo H, Gao Q, Zou X. Inhibition of activated Stat3 reverses drug resistance to chemotherapeutic agents in gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 315: 198-205 [PMID: 22104727 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.10.011]
- 46 Nagaraj NS, Washington MK, Merchant NB. Combined blockade of Src kinase and epidermal growth factor receptor with gemcitabine overcomes STAT3-mediated resistance of inhibition of pancreatic tumor growth. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 483-493 [PMID: 21266529 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1670]
- 47 Lin L, Fuchs J, Li C, Olson V, Bekaii-Saab T, Lin J. STAT3 signaling pathway is necessary for cell survival and tumorsphere forming capacity in ALDH/CD133 stem cell-like human colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 416: 246-251 [PMID: 22074823 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.112]
- 48 Di Stefano AB, Iovino F, Lombardo Y, Eterno V, Höger T, Dieli F, Stassi G, Todaro M. Survivin is regulated by interleukin-4 in colon cancer stem cells. *J Cell Physiol* 2010; 225: 555-561 [PMID: 20506498 DOI: 10.1002/jcp.22238]
- 49 Liedtke S, Enczmann J, Waclawczyk S, Wernet P, Kögler G. Oct4 and its pseudogenes confuse stem cell research. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 364-366 [PMID: 18371374 DOI: 10.1016/j.stem.2007.09.003]
- 50 Lengner CJ, Welstead GG, Jaenisch R. The pluripotency regulator Oct4: a role in somatic stem cells? *Cell Cycle* 2008; 7: 725-728 [PMID: 18239456 DOI: 10.4161/cc.7.6.5573]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中医方证相应理论的研究进展

周盼盼, 王彦刚

周盼盼, 河北医科大学研究生院 河北省石家庄市 050011
王彦刚, 河北省中医院脾胃病二科 河北省石家庄市 050011
周盼盼, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究。
作者贡献分布: 本文选题设计与审校由王彦刚完成; 文献资料搜集由周盼盼完成; 写作由周盼盼与王彦刚共同完成。
通讯作者: 王彦刚, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 050011, 河北省石家庄市中山路389号, 河北省中医院脾胃病二科。
piwei001@163.com
电话: 0311-85990276
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-08-09
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine

Pan-Pan Zhou, Yan-Gang Wang

Pan-Pan Zhou, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Yan-Gang Wang, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Correspondence to: Yan-Gang Wang, Professor, Chief Physician, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 389 Zhongshan East Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. piwei001@163.com
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-08-09
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

Over the past decades, many Chinese scholars agree that the relationship between formula and syndrome is a very important direction of TCM theoretical and clinical research, and considerable progress has been achieved in the research of the theory of correspondence between formula and syndrome. Syndrome differentiation-based treatment is the core content of TCM theory, and the correspondence between formula and syndrome is the important link between syndrome differentiation and treatment. A syndrome corresponds to a formula, and a formula also corresponds to a syndrome. The theory of correspondence between formula and syndrome has become the premise of clinical treatment. This article summarizes the recent advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in terms of theoretical knowledge, experimental research, and

clinical research.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Theory of correspondence between formula and syndrome; Theoretical knowledge; Experimental research; Clinical research

Zhou PP, Wang YG. Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2975-2980 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2975.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2975>

摘要

近现代以来, 国内许多学者普遍认同方证关系是中医理论与临床研究的极其重要的方向, 尤其围绕方证相应关系的研究取得了相当大的进展。辨证论治是中医理论中的核心内容, 而方证相应则是辨证论治的重要环节, 有是证而用是方, 用是方而治是证, 方证相应成为临床取效的前提。本文结合不同医对方证相应理论的研究及应用, 从理论认识、实验研究、临床研究等三个方面, 对当前方证相应理论相关研究做了全面综述; 进一步肯定该理论的临床使用价值, 并将其广泛应用于中医理论研究及临床实践, 旨在为进一步提高中医临床疾病的诊治水平提供新的思路和方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 方证相应; 理论认识; 实验研究; 临床研究

核心提示: 方证研究是中医现代化研究的一个重要内容, “方证相应”是其核心问题, 在中医理论指导下研究中医“方证相应”诊疗模式的内涵, 揭示其随证用方、随证加减的方剂配伍规律, 是中医药服务于临床的需要, 因此进行“方证相应”研究有着十分重要的意义。

周盼盼, 王彦刚. 中医方证相应理论的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(28): 2975-2980 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2975.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2975>

■背景资料

方证相应理论的应用为临床疾病的诊治提供了新的思路和方法。抓住方证, 寻找证与方药的对应关系, 实现方证对应研究方法的客观化, 方证的规范化, 弄清方药所以取效的机制, 是提高中医临床疗效的可靠途径。

■同行评议者

王富春, 教授, 长春中医药大学; 侯凤刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属市中医院肿瘤科

■ 研发前沿

辨证论治是中医学的诊疗特色,证、法、方、药是辨证论治的核心内容,“法随证立,方从法出,方以药成”反映了证-法-方-药之间的密切关系。在这个体系中,方药与病证的关系占据重要地位,是中医学的重要命题。围绕中医方证关系的科学内涵及其关键问题的研究已成为中医药现代研究的热点领域。

0 引言

方剂是以证候为依据,根据君、臣、佐、使及七情和合原则制定的针对某种证候的药物集合体;证候是确定方剂的依据,又是方剂干预的对象。方证相应,顾名思义,指方剂与证候两者间的对应性关系,即方剂的主治病证范畴及该方组方之理法与病人所表现出来的主要病症或病机相符合^[1]。有学者将之称为“方证对应”,简言之,就是方与证要相符合。辨证论治是理、法、方、药的有机结合体,是中医认识和治疗疾病的基本原则,而方证相应则是辨证论治的总目的。法依证立,方随法出,有是证用是方,用是方而治是证,方证相应,有助于提高临床辨证论治的水平及疗效。笔者就方证相应理论的发展从不同方面总结如下。

1 方证相应的理论认识

1.1 相关概念与内涵 方证相应首见于《伤寒论》第317条曰:“病皆与方相应者,乃服之”,指出在整个方证证治体系中普遍存在着相关的证与方的对应关系,即治疗每一具体病证,皆有其相对应的最佳方、首选方,且常以方名证,如“桂枝证”、“柴胡证”等。宋代朱肱对方证相应理论进一步阐述为“所谓药证者,药方前有证也,如某方治某病是也”,“须是将病对药,将药合病,乃可服之”。徐灵胎《伤寒论类方》中指出“不类经而类方”,及“方之治病有定,而病之变迁无定,知其一定之治,随其病之千变万化而应用不爽”,其认识更为深刻。认识疾病在于“证”,“证”之精妙之处,古人称之为“机”,辨证求机为高度的理性思维过程;施“方”则是治疗疾病的过程。证随机转,方随证出,方因证变是方证相应的一般规律。胡希恕认为“临证有无疗效,决定于方证对应与否,执一法不如守一方”,“方证辨证是六经、八纲辨证的继续,更是辨证的尖端”^[2],认为中医药治病有无疗效,其关键就在于方证是否对应。

谢鸣^[3]认为方证相应中“方”是指具有特定药味、药量、剂型、用法等内容的用药形式,“证”则指特定方剂所针对的具体病证。方药的功用体现治法,治法与病证相对应,把方与证的这种对应关系叫做“方证相应”。即指一个方剂的功效和方剂内的药味及其配伍关系与其针对的病证、病机及病理环节之间具有高度相关性和针对性。王阶等^[4]认为“方证相应”的实现依赖于辨证体系的全面和准确,反过来也成

为检验辨证体系健全和实用与否的标准。他们认为方证相应中“证”的内涵可以理解为证候要素,对方与证候要素相对应进行临床施治和研究,可以提高中医临床应用的灵活性和规范性,广泛深入寻找对应证候要素的不同病种的方药配伍和组合,并在药味、药量等具体用药方面进一步细化,强调用药对证的契合度,尽力遵循方证传统理论,进行临床验证,以推动“证候要素及应证组合”为主体的辨证体系的完善。不同医家对“方证相应”理论的不同认识,极大丰富了其内涵,并充分肯定了其存在的价值,为临床进一步提高诊治水平提供了更为清晰的思路。

1.2 主要表现形式 从方证相应的定义可以看出,方证相应不是方与证的单一对应,而是方与主证、方证的病机、方证的症状、方证间病势病位病情病性等相对应的综合体。主证是决定证候性质的根本所在,针对主证处方用药,对其兼证辨证化裁,以切中病情收效良。例如少阳病的小柴胡汤以寒热往来、胸胁苦满、心烦喜呕为主证,故见此为主证者,给予小柴胡汤,若兼夹他证则适当加减,以收方证相应之效。随着病情变化,辨证论治,以达到方与证的动态对应^[1]。方证相应的关键是主要的、关键的病机层面上的对应,方剂所治病证有一定的病机,证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合^[5],方能取效。证与方剂应遵循定位、定势、定量以及定性同步原则,以使方证对应达到了较高的境界^[6]。此外,方证相应还包括药量与病情对应、煎服法与病情对应^[7]。宋姚屏等^[8]以中医理论为基础,提出方证相应应结合辨证,从多维角度进行分析,结构维度(症的主次、方剂的君臣佐使)、性质维度(方、证的虚实寒热)、程度维度(方、证的轻重不同)、位置维度(证的病位、方的归经和作用部位)。综合应用各个维度分析方证相应,揭示中医药理论指导下的方证相应的本质,能更好地指导临床实践。

2 方证相应的动物实验研究

中医证候动物模型是中医理论和中药现代研究的重要技术手段。现代药理学对中药“方”的评价多集中在生化指标方面,对方与证的相应性证候指标的相关研究较少。“方证相应”理论尤其是以方测证逆向辨证方式的提出,为中医证候的现代研究提供了方法学上的参考。从几种造模方法中筛选出与临床最吻合的动物模

型建立方法,在相应方治疗下机体所发生的物质变化视为该证候的物质基础,通过选用经典方剂,对所建立的证候动物模型进行治疗,观察方剂对模型的影响,检测模型宏观指标和微观指标的变化,这些变化即为模型的生物学基础,亦是方剂的作用机理,从而为方证相应理论的进一步研究提供客观依据。

王聪丽等^[9]将方证相应从模型与方剂的对应性角度将实验研究模式总结为一模一方、一模两方、一模多方及两模两方,从而通过动物实验来验证存在对应关系的方与证。

2.1 两模两方 两模两方适用于两种相反证型与其各自对应的方剂的实验研究,通过交叉治疗观察疗效,进而证明方与证存在客观的对应性。李冀等^[10-12]采用寒热因素结合腹腔注射消炎痛法和水浸应激法,分别建立大鼠胃溃疡寒、热证模型,使用寒热不同性质的大黄黄连泻心汤、理中丸对两种模型进行交叉治疗,结果显示大鼠血清NO、GAS、MOT、ET的含量、胃组织EGF和TGF- α 含量均有相应变化。运用方剂佐证性研究证明了寒、热证模型与寒热属性之方剂的相关性,从实验研究方面印证了“寒者热之、热者寒之”法则与“方证相应”模式的客观性。李茹柳等^[13]将乙醇和NaOH作为胃热和胃寒证的造模因素,分别造成大鼠胃寒热Ⅰ°、胃寒热Ⅱ°及胃寒Ⅲ°等5种模型,结果表明寒性方剂左金丸发挥作用在热证模型上,热性方剂反左金丸发挥作用在寒证模型上,也充分印证了方证相应的客观性。

2.2 一模多方 一模多方重在从多个方中选择与某种证型相对应的最佳方,以证实方证相应的科学性,为方证相应提供客观依据。刘丽梅等^[14]建立溃疡性结肠炎动物模型,根据溃疡性结肠炎发展的不同阶段证候特点,探索不同经方干预大鼠溃疡性结肠炎模型的作用机制,用以方测证的思维方式,依据方证相应的原则,阐明不同经方在不同阶段治疗该病的方证对应关系及其中医病机,揭示中医证候的现代医学病理实质,诠释不同经方对机体整体调节机制,阐明方剂配伍意义,为提高临床疗效奠定理论基础。

2.3 一模两方 一模两方目的在于探讨某些方剂作用的相似性,适用于功效相类似的方剂与其所对应的相同功效证型的实验研究。陈素红等^[15]采用附子汤+麻黄碱+盐水三因素制备大鼠高血压肝阳上亢证模型,分组给药,探讨羚角降压方、天麻钩藤方与高血压肝阳上亢证的方证相

应性研究。结果发现天麻钩藤方、羚角降压方具有平肝潜阳的功效,能改善高血压肝阳上亢证的证候指标,降低收缩压,具有一定的方-证相应性。唐汉庆等^[16]造成大鼠脾阳虚模型,用高效液相色谱测量骨骼肌能荷。观察到温热性质的附子理中丸增强解偶联蛋白3活性,降低骨骼肌能耗,提高机体产能,从而发挥了对脾阳虚的治疗作用。以寒凉复方黄连解毒汤作为反证对照,疗效不明显。

2.4 一模一方 一模一方的实验研究模式重在探讨方证之间的一一对应关系,也是目前研究最多最基本的实验研究方法。张杰等^[17]通过右归饮对肾阳虚证动物模型大鼠干预的研究,运用蛋白质组学技术探寻肾阳虚证标志蛋白质,从而证明右归饮和肾阳虚证存在方证相应关系。李俊丽等^[18,19]基于方证相应学说探寻肾阴虚证的标志蛋白质的研究及关于左归饮与肾阴虚证方证相应机制的蛋白质组学研究,王文萍等^[20]基于“方证相应”理论验证慢性间歇性缺氧模型气阴两虚证候属性的初步研究等,均以方证相应理论为基础,通过动物模型验证方对证的肯定疗效。

3 方证相应的临床研究及方法

临床要做到方证相应,需要经过一个抓主证、辨兼证、析类证、排除禁忌证的一系列临床思维。回归方证相应思维模式有助于临床经验的总结,提高中医药临床疗效^[21]。近年来众多学者致力于方证相应理论的研究探讨,不断探索新的研究方法,将其应用于临床实践中。

3.1 综合多学科知识,建立不同的临床研究方法 任锡禄^[22]认为多学科研究方法是实现方证相应的可行性途径,循证医学为解决这一问题提供了新的思路,在此基础上建立具有中医特色的“以方统证”、“以方统药”、“以方统病”的系统评价方法,使其适合中医药文献的特点,以经方为研究对象进行方证相应研究。

潘大为^[23]将层次分析法(AHP)引入中医方证研究,建立方证耦合数学模型,在现代科学基础上探索《伤寒论》方证相应原理,为提出客观、规范的中医方证临床疗效评价标准提供可靠依据。陈云慧等^[24]运用贝叶斯方法对样本方数据库进行挖掘,从而发现证-证间的关联,为方证相应的判定及研究提供了一种较为客观、可行的方法。包巨太等^[25]从哲学、中医学和临床实践三个层面提出“阴阳球-八纲三级结构系统模

■ 相关报道

郁祥以“黄金分割法”为标准,通过对10年间血府逐瘀汤文献资料的整理,总结其主要脉症及主治疾病,符合原书所载“胸中血府血瘀之证”,建立了稳定的血府逐瘀汤的方证相应关系,为临床准确辨证施治提供了科学理论依据。

■创新盘点

本文所涉及的内容基本涵盖了目前国内中医方证相应理论发展的现状,并从理论认识、实验研究、临床研究不同角度对当前方证相应理论相关研究做了全面综述,对指导中医临床具有很好实践意义。

型”假说,使抽象的中医概念得到客观的展现,为方证相应的客观性研究提出了新的思路和研究方法。郭超峰等^[26,27]引入基于案例推理方法研究经方的“方证相应”理论,进而构建“方证相应”证治体系,研究方与证之间的特殊相应关系以及中医临床思维模式,为“方证相应”学说的进一步研究打下坚实的基础;并遵循经方“方证相应”理论的内涵构建了桂枝汤方证网络,运用复杂网络理论对该网络进行了分析,其思路与方法对“方证相应”研究进行了新的尝试,有助于“方证相应”科学内涵的深入探讨。黄煌教授在多年经验基础上,提出了鲜明实用的“方证三角”学说,认为只有方-病-人三者相结合,构成一个合理的“方证三角”,才能更好地运用于临床实际^[28],实是对方证相应学说的进一步发展。

3.2 回顾性分析,归纳方证相应规律 郁祥^[29]以“黄金分割法”为标准,通过对10年间血府逐瘀汤文献资料的整理,总结其主要脉症为胸痛,心烦易怒,失眠,舌暗红或有瘀点,苔薄白,脉涩或弦;主治疾病为瘀血阻滞心胸,符合原书所记载“胸中血府血瘀之证”,建立了稳定的血府逐瘀汤的方证相应关系,为临床准确辨证施治提供了科学理论依据。

张士强等^[30]将频率描述、系统聚类、对应分析等数据挖掘的统计分析方法引入至探求黄吉赓教授在诊治肺系疾病的方证相应的诊治思路中,既实现对中医特有的“方证相应”现象及其内在规律的理论挖掘和知识发现,同时也是名老中医经验总结的客观化、直观化的实践应用。寇爽等^[31]通过对近五年中医辨证论治酒精性肝病的文献总结,从遣方用药的角度探讨中医药对于本病的认识及遣方用药规律,根据“以方测证”、“方证相应”的原理,总结酒精性肝病的治疗法则及主要证素认识。魏春等^[32]基于《金匱要略》温经汤方证相应规律的文献统计分析的研究,李童关于归脾汤^[33]、小青龙汤^[34]方证相应研究的文献统计等,从不同角度发掘其稳定而规范的方证相应关系,使其客观化,为临床遣方用药提供行之有效的理论基础。

4 方证相应的临床应用及疗效观察

4.1 方剂的临床应用以探寻相应证的表现 何永明^[35]依据方证相应原则,将柴苓汤广泛应用于肿瘤治疗中。临床中肿瘤患者亦多见患者情绪低落或焦虑,食欲不振或呕吐,口渴或小便不

利,或面目肢体浮肿等,柴苓汤对此有较好的治疗作用,故也。张涛等^[36]在寒温统一论的指导下进行通脉养心丸方证探讨,并总结其典型脉症。小柴胡汤为少阳病而设,证见“往来寒热、胸胁苦满、嘿嘿不欲饮食、心烦喜呕、口苦、咽干、目眩”,临床应用“但见一证便是,不必悉具”,杨海燕等^[37]从几则误诊误治案例分析,有小柴胡汤证便可用小柴胡汤,且疗效显著。陈建芳^[38]总结黄煌运用柴胡加龙骨牡蛎汤经验,归纳其方证:其一以胸胁苦满为主的柴胡证;其二精神神经症状;准确运用“方-人-病”的方证三角诊疗模式,收效甚著。由此可知,方证相应应在临床疾病治疗中的重要性和必要性。

4.2 方证对应程度决定临床疗效 临床治疗疾病的疗效取决于方证对用程度,方证对应则疗效佳,方不对证则疗效差。从临床的误诊误治病例中也可看出方证对应才能药到病除。

杨海梅等^[37]总结临床中几例小柴胡汤证误诊误治病例,其临床表现以眩晕、经期发热、咳嗽症状为主,分别予其半夏白术天麻汤、丹栀逍遥散加减、止咳化痰药物治疗,疗效欠佳,后改用小柴胡汤加减口服,治之而显效。由此而至,方证对应是临床取效的保证。王阶等^[39]采用随机双盲双模拟实验,选择冠心病心绞痛属血瘀气滞证或气阴两虚证为研究对象,以血府逐瘀汤及生脉饮为干预手段,通过观察临床疗效及理化指标的变化,考察方证对应关系。结果表明,临床疗效取决于方证对应程度,方证对应疗效及药物在体内的作用方式与方对证契合点及方对病作用靶点有关。周庆兵等^[40]从方证相应角度探析周霭祥辨治再生障碍性贫血经验,其倡导以补肾为中心进行辨证施治,总结十四味建中汤方证和加味大菟丝子饮方证,随症加减疗效显著,广泛用于再障的治疗。高广飞^[41]以方证相应为原则,辨证论治咳嗽变异性哮喘,在临床施治中取得较好疗效。严兴亚等^[42]通过观察方证相应对急性脑梗死患者D-二聚体含量的影响,表明方证相应组可降低死亡率,提高生活质量,可见方证治疗急性脑梗死安全、有效。马家驹等^[43]通过探讨经方治疗荨麻疹,指出其重在临床先辨六经继辨方证,方证相应,方可取得良好疗效。

4.3 为中医证候规范化研究产生积极的推动作用 张军平等^[44]基于病证结合、方证相应优化病毒性心肌炎治疗方案,使诊疗更具针对性、高效性,从而取得最佳的治疗效果。郑香春等^[45]关于癫痫中医证候规范化研究的思路和方法探析,

对癫痫的中医诊断标准与疗效评价体系提供依据。邵明义等^[46]从经方医学的实践入手, 结合病症结合、方证相应探索建立中药新药临床疗效评价的新方法, 为客观评价中药新药临床疗效提供新思路。

5 结论

方证相应是对方剂与证候两者间关系的一种阐述, 他强调方与证的对应性, 证候是处方的依据, 反过来方剂又是检验证候诊断是否正确的手段, 证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合。中医临床用药主要是用方剂治病, 方证相应成为临床取效的前提。方证相应关系, 是理、法、方、药的方剂辨证体系的统一, 其理论研究必不可少, 实验研究为基础, 结合临床研究才能揭示其内在本质, 才能最终达到中医服务于临床的目的。

辨证施治是中医理论中的核心内容, 而方证对应是辨证论治的重要环节。抓住方证, 寻找证与方药的对应关系, 实现方证对应研究方法的客观化, 方证的规范化, 弄清方药所以取效的机理, 是提高中医药临床疗效的可靠途径^[24], 同时也易于动物模型的设计, 进而可能找到方与证相对应的现代病理生理模型和药理学的结合点。通过病症结合、方证相应研究, 探求病证和方证的相关性, 揭示证候的生物学基础, 进行证候的规范化、数据化及与疾病、方剂的相关性研究, 为证候的诊断规范与疗效评价标准提供现代科学依据, 建立病证方结合的模型评价指标体系, 将为中医临床诊疗标准的制定提供参考^[47]。“方证相应”理论不仅是临床实践应遵循的原则, 也是开展中医药现代化研究应有的重要内容与突破点。

方证相应理论的应用为中医新理论及临床疾病的诊治提供了新的思路和方法。目前研究较多的浊毒理论是近年来提出的一个重要病因学说, 浊毒致病论已成为现代中医病因学的基础理论^[48], 这一学说为临床上许多重大疑难疾病的治疗提供和开辟了新的的重要途径, 正广泛应用于临床许多疾病, 包括慢性萎缩性胃炎、溃疡性结肠炎、慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化、糖尿病等^[49]。浊毒既是一种对人体脏腑经络及气血阴阳均能造成严重损害的致病因素, 同时也是多种病因导致脏腑功能紊乱、气血运行失常, 机体内产生的代谢产物不能及时正常排出, 蕴积体内而化生的病理产物^[50]。浊毒为患所形成的

病证乃为浊毒证, 是广泛存在于多种疾病中的病理状态。应用化浊解毒法治疗浊毒证, 临床已取得较满意的疗效。

因此, 通过将中医整体观念与方证相应理论相结合, 来探讨浊毒证共性病机演变、临床证候特征、化浊解毒用药规律, 发展浊毒学说, 进而提高浊毒证临床辨证治疗水平。立足于方证相应, 继续深入发掘化浊解毒方与浊毒证候稳定而规范的方证相应关系, 为进一步完善中医浊毒理论开辟了新的思路, 同时为其进一步规范化研究提供理论基础, 有助于浊毒理论更好的应用于临床。

6 参考文献

- 1 张兰凤, 王阶, 王永炎. 方证对应研究. 中华中医药杂志 2005; 20: 8-10
- 2 李国臣, 王冠民, 崔文艺. 胡希恕方证辨证说略. 上海中医药杂志 2003; 37: 39-41
- 3 谢鸣. “方证相关”逻辑命题及其意义. 北京中医药大学学报 2003; 26: 11-12
- 4 王阶, 汤艳丽, 何庆勇, 熊兴江. 方证对应在中医学辨证体系构建中的思考. 中华中医药杂志 2009; 24: 837-839
- 5 袁敬柏, 王阶, 赵宜军, 王永炎. 病证结合与方证相应研究. 辽宁中医杂志 2006; 33: 137-139
- 6 袁冬生. 论方剂教学中的方证对应关系. 江西中医药 2000; 31: 46-47
- 7 冯世纶. 认识经方方证. 上海中医药杂志 2013; 47: 26-28
- 8 宋姚屏, 雍小嘉, 蒋永光, 周训伦. 从多维角度看方证相应. 新中医 2007; 39: 6-7
- 9 王聪利, 马红, 蔡宝昌. 方证相应的实验研究模式. 吉林中医药 2008; 28: 872-873
- 10 李冀, 谢田, 于海, 蒋蕾, 柴剑波, 赵伟国, 毕珺辉. 大黄黄连泻心汤、理中丸对消炎痛型及水浸应激型胃溃疡寒热证模型大鼠血清NO和ET含量的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 1862-1864
- 11 李冀, 谢田, 于海, 蒋蕾, 赵伟国, 赵雪莹, 毕珺辉, 柴剑波. 大黄黄连泻心汤、理中丸对消炎痛型及水浸应激型胃溃疡寒热证模型大鼠胃组织EGF和TGF- α 含量的影响. 中医药信息 2011; 28: 52-55
- 12 李冀, 柴剑波, 李胜志, 胡晓阳, 肖洪彬, 陈宝忠. 寒、热方剂对消炎痛型胃溃疡寒、热证模型大鼠血清GAS, MOT含量的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 170-172
- 13 李茹柳, 陈艳芬, 陈蔚文. 左金丸方证相应动物模型建立的回顾及其对方证研究的意义. 广州中医药大学学报 2005; 22: 236-238
- 14 刘丽梅, 陈琳, 王瑞海, 刘振丽, 卢贺起, 张玲, 宋志前. 病证结合方证相应基础研究的现状. 中国中医基础医学杂志 2009; 15: 334-336
- 15 陈素红, 吕圭源, 陈宁, 陈晓琳, 刘丽君. 羚角降压方、天麻钩藤方与高血压肝阳上亢证的方证相应性研究. 中国实验方剂学杂志 2010; 16: 128-131
- 16 唐汉庆, 韦祎. 脾阳虚模型小鼠产热障碍机制及附子理中汤的干预作用. 海南医学院学报 2010; 16: 285-288
- 17 张杰, 李湔, 彭锦, 温瑞兴. 基于右归饮与肾阳虚证方证相应关系探寻肾阳虚证标志蛋白质的初步研究. 中国中医基础医学杂志 2008; 14: 230-232
- 18 李俊丽, 李湔, 刘铭福, 张杰. 基于方证相应学说探寻肾阴虚证的标志蛋白质. 中国中医基础医学杂志 2011;

■应用要点

方证相应是对方剂与证候两者间关系的一种阐述, 他强调方与证的对应性, 证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合。中医临床用药主要是用方剂治病, 方证相应成为临床取效的前提。有是证用是方, 用是方而治是证, 为进一步提高临床疾病的诊治水平提供新的思路和方法。

■同行评价

本文有一定科学性和可读性,叙述条理分明,反应了当前方证相应这一理论的研究现状,对中医药的研究有很好地指导意义。

- 17: 1084
- 19 李俊丽, 李湏, 刘铭福, 张杰. 左归饮与肾阴虚证方证相应机理的蛋白质组学研究. 中国中医基础医学杂志 2010; 16: 203-208
- 20 王文萍, 柴程芝, 寇俊萍, 朱丹妮, 严永清, 余伯阳. 基于“方证相应”理论验证慢性间歇性缺氧模型气阴两虚证候属性的初步研究. 中国中医基础医学杂志 2012; 18: 50-52
- 21 徐珉, 老膺荣, 范宇鹏, 温丹婷, 刘志清, 古求知. 方证相应理论及其临床思维模式探讨. 新中医 2013; 45: 4-5
- 22 任锡禄. 病证结合、方证相应研究的思考. 光明中医 2007; 22: 1-2
- 23 潘大为. 运用AHP法建立方证耦合模型: 一种方证研究的新思路. 时珍国医国药 2011; 22: 1226-1228
- 24 陈云慧, 王燕, 张昱, 叶晓, 李仕进. 基于贝叶斯方法的方证相应研究. 辽宁中医杂志 2008; 35: 360-362
- 25 包巨太, 吴范武, 图娅, 齐峰, 马会霞. 《伤寒论》方证对应规律的可视化研究. 中医杂志 2008; 49: 372-374
- 26 郭超峰, 施学丽. 基于案例推理构建“方证相应”证治体系的探讨. 中国中医基础医学杂志 2011; 17: 1332
- 27 郭超峰, 施学丽. 基于复杂网络理论的经方“方证相应”研究-以桂枝汤为例. 辽宁中医杂志 2013; 40: 438-440
- 28 杨杰. 黄煌教授“方-病-人”学说浅析. 西部中医药 2013; 26: 45-48
- 29 郁祥. 血府逐瘀汤方证相应研究. 江西中医学院学报 2009; 21: 39-40
- 30 张士强, 余小萍. 黄吉康教授咳嗽病例的数据挖掘及知识发现. 全国中医内科肺系病第十四次学术研讨会论文集 2010; 7: 88-92
- 31 寇爽, 车念聪, 王蕾. 酒精性肝病的遣方用药规律探析. 中华中医药杂志 2010; 25: 872-877
- 32 魏春, 武亿红. 基于《金匱要略》温经汤方证相应规律的文献统计分析. 中国中医急症 2012; 21: 1758
- 33 李童. 归脾汤方证相应研究的文献统计分析. 中医学报 2011; 26: 577-578
- 34 李童. 小青龙汤方证相应研究. 长春中医药大学学报 2011; 27: 176-178
- 35 何永明. 柴苓汤在肿瘤治疗中的应用. 浙江中医药大学学报 2009; 33: 854
- 36 张涛, 杨瑾, 张国骏. 基于寒温统一论的通脉养心丸方证探讨. 吉林中医药 2012; 32: 1145-1146
- 37 杨海燕, 王萍, 刘新亚. 从误诊误治案例看小柴胡汤的方证相应. 江西中医药 2009; 40: 16
- 38 陈建芳, 黄煌. 黄煌运用柴胡加龙骨牡蛎汤经验. 山东中医杂志 2012; 31: 899-901
- 39 王阶, 张兰凤, 王永炎. 方证对应理论源流及临床研究. 世界科学技术 2004; 6: 13-17
- 40 周庆兵, 胡晓梅. 从方证相应探析周霭祥辨治再生障碍性贫血经验. 上海中医药杂志 2011; 45: 1-2, 8
- 41 高广飞. 方证相应论在咳嗽变异性哮喘治疗中的应用. 河北中医 2009; 31: 60-61
- 42 严兴亚, 杨文明, 董婷. 方证相应对急性脑梗死患者D-二聚体含量的影响. 中医药临床杂志 2011; 23: 581-583
- 43 马家驹, 张广中. 经方治疗荨麻疹探讨. 中华中医药杂志(原中国医药学报) 2013; 28: 997-1000
- 44 张军平, 吕仕超, 朱亚萍, 周亚男, 肖楠, 郭晓辰, 王小玲. 基于病证结合、方证相应优化病毒性心肌炎治疗方案. 中华中医药学刊 2012; 30: 2153-2154
- 45 郑香春, 刘金民. 癫痫中医证候规范化研究的思路和方法探析. 中医药学报 2008; 36: 1-5
- 46 邵明义, 阎博华. 借鉴经方医学模式探索中药新药疗效评价的方法. 第十三次临床药理大会论文汇编, 442-444
- 47 苗明三, 张玉林, 杨保新. 病证方结合研究的思路. 时珍国医国药 2008; 19: 95-96
- 48 王正品, 李佃贵, 杜艳茹, 王彦刚, 张纭, 刘启泉, 贾娟娟, 房家毅, 郭启云, 张建中, 郭明州. 浊毒致病论与现代中医病因学. 中医杂志 2010; 51: 11-13
- 49 李佃贵, 王彦刚. 浊毒理论临床应用进展. 中华中医药学会脾胃病分会第十九次全国脾胃病学术交流会论文汇编 2007; 8: 580-584
- 50 裴林, 李佃贵, 曹东义, 刘启泉, 王彦刚. 浊毒浅识. 河北中医 2010; 32: 24-25

编辑 田滢 电编 鲁亚静



益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制

宋岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜葵

宋岩, 天津医科大学 天津市 300070
曹晓沧, 姜葵, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052
杨永妍, 天津医科大学第二临床医学院 天津市 300211
宋岩, 在读研究生, 研究方向为消化系统相关疾病。
作者贡献分布: 本文综述由宋岩与杨永妍完成; 曹晓沧与姜葵负责审核。
通讯作者: 姜葵, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。jiangkui66@sohu.com
电话: 022-60362977
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-11
接受日期: 2013-09-08 在线出版日期: 2013-10-08

Mechanisms underlying role of probiotics in recovering *Helicobacter pylori*-associated intestinal mucosal barrier damage

Yan Song, Xiao-Cang Cao, Yong-Yan Yang, Kui Jiang

Yan Song, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Xiao-Cang Cao, Kui Jiang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Yong-Yan Yang, the Second Clinical Medical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China
Correspondence to: Kui Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China. jiangkui66@sohu.com
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-11
Accepted: 2013-09-08 Published online: 2013-10-08

Abstract

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is closely associated with many gastrointestinal diseases, including peptic ulcers, chronic gastritis, gastric cancer and gastric mucosa-associated lymphoid tumors. In recent year, traditional triple therapy for *H. pylori* eradication has become less effective than the past, which is related to the resistance of bacteria. The addition of probiotics into the regimen has been proved to be able to significantly enhance the eradication rate and reduce side effects. Probiotics increase the eradication of *H. pylori* by recovering the damage of the chemical barrier, biological barrier, mechanical barrier and immune barrier.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Probiotic; Intestinal mucosal barrier

Song Y, Cao XC, Yang YY, Jiang K. Mechanisms underlying role of probiotics in recovering *Helicobacter pylori*-associated intestinal mucosal barrier damage. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2981-2986 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2981.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2986>

摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)自发现至今被认为能够导致多种疾病的发生, 包括消化性溃疡、慢性胃炎、胃癌以及胃淋巴瘤相关性肿瘤。近年来传统三联疗法(质子泵抑制剂+两种抗生素)对于*H. pylori*根除率明显下降, 这与细菌耐药性的增强有关。在传统三联疗法基础上添加益生菌能够有效的提高*H. pylori*根除率, 同时降低不良反应的发生。其机制可能为益生菌能够修复*H. pylori*引起的化学屏障、生物屏障、机械屏障以及免疫屏障的破坏, 恢复消化系正常防御功能, 从而辅助*H. pylori*根除。此文将就益生菌修复*H. pylori*相关消化系屏障功能破坏的具体机制进行综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 益生菌; 黏膜屏障

核心提示: 益生菌在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关疾病治疗中的应用逐渐引起了人们的重视。益生菌能够修复*H. pylori*引起的黏膜屏障损伤, 恢复正常的消化系黏膜屏障功能, 从而有助于*H. pylori*相关疾病的治疗。

宋岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜葵. 益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2981-2986
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2981.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2981>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种定植于胃黏膜的革兰氏阴性菌, 发展中国家

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染会导致黏膜屏障损伤, 本文旨在归纳总结益生菌修复*H. pylori*引起黏膜屏障损伤的机制, 为益生菌在*H. pylori*治疗中的应用提供证据。

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■ 研发前沿

益生菌的添加能够提高*H. pylori*的根除率,降低不良反应的发生。

约有79%-90%^[1,2]的人群感染*H. pylori*,发达国家感染率约为25%-50%^[3]。*H. pylori*已被确认能够引起多种疾病,主要包括消化性溃疡、慢性胃炎、胃癌以及胃淋巴瘤相关性肿瘤。多年来,人们一直都致力于研究如何将*H. pylori*根除。目前,传统的三联疗法(质子泵抑制剂+两种抗生素)为*H. pylori*的一线根除方案,最初应用时效果理想,但近年来,三联疗法对于*H. pylori*的根除率有所下降,这与抗生素滥用导致的*H. pylori*耐药性增强有着十分紧密的联系。近年来多数实验证实,在三联疗法根除*H. pylori*的同时,对患者补充益生菌,能够显著提高*H. pylori*根除率^[4-8],减轻不良反应^[2,6,9-11]。这引起越来越多的国内外学者开始关注消化系菌群与*H. pylori*之间的关系,试图从一个新的角度重新思考*H. pylori*感染以及致病与消化系菌群之间关系,从而为*H. pylori*的治疗开辟一条新的道路。其中,益生菌通过修复*H. pylori*引起的消化系黏膜屏障破坏,辅助治疗*H. pylori*相关疾病成为了研究的新方向。本文将就近年来的相关报道进行综述。

1 背景

消化系黏膜屏障主要由化学屏障、生物屏障、机械屏障以及免疫屏障构成,他们共同维持消化系内稳态,在预防致病菌感染中发挥着重要作用。人在健康情况下消化系黏膜上皮表面覆盖含有离子、蛋白等物质的黏液屏障。消化系内分布着种类丰富,总量庞大^[12]的菌群,他们构成了消化系的生物屏障。消化系黏膜上皮以及上皮间细胞连接作为机械屏障限制物质及微生物的通过。而免疫细胞及炎症介质能够在致病菌入侵时及时激活并将其清除。这些共同作用,维持消化系内的稳态。

人类在出生后消化系内菌群开始定植,消化系内菌群构成受多种因素的影响,其中包括遗传学因素、饮食情况、环境暴露以及抗生素应用等^[13]。应用抗生素根除*H. pylori*会导致消化系内菌群失调,引起诸多不良反应。另外有研究表明,抗生素灌胃后,小鼠胃内原生菌群数量锐减,胃内正常的微环境被破坏,促进*H. pylori*的定植^[14]。益生菌是一类适当摄取后能够维持人体健康的微生物^[15],他们不仅大量定居于肠道内,同时也是胃内原籍菌的一部分,补充益生菌能够提高*H. pylori*的根除率,降低三联疗法的不良反应。由此我们重新思索:长久以来,我们一直着眼于*H. pylori*的致病以及治疗,却忽视了*H. pylori*阳

性患者在感染前是否存在消化系菌群失调、传统*H. pylori*根除治疗引起的菌群失调是否增加了*H. pylori*根治的难度。因此,应用益生菌恢复消化系菌群平衡,修复消化系黏膜屏障,治疗*H. pylori*相关疾病成为了一条可行的新思路。

2 益生菌修复*H. pylori*引起的化学屏障破坏

正常情况下,胃内的pH值很低,大约在1-4之间,能够抑制*H. pylori*的活性。*H. pylori*产生尿素酶,分解尿素产生二氧化碳和氨,升高周围微环境的pH值,从而起到自我保护作用。益生菌能够产生有机酸,如乳酸、乙酸等,这些酸性物质能够降低胃内pH值,破坏*H. pylori*建立的中性pH微环境^[16],降低尿素酶活性^[17],抑制*H. pylori*的生长。Celli等^[18]的研究认为,黏蛋白(mucin, MUC)在pH呈中性时为黏液状态,在酸性条件下则为凝胶状态。因此,益生菌生成酸性物质,降低pH值,使得黏蛋白向凝胶状态转换,阻碍了*H. pylori*的运动,使其不易黏附于上皮组织而排出。另外,在大鼠模型胃损伤模型中,双歧杆菌BF-1菌株能够提高Muc5ac的表达,有助于增强黏膜的化学屏障作用^[19]。因此添加益生菌恢复正常的消化系化学屏障,有助于黏液层*H. pylori*排出体外,从而提高*H. pylori*根除率。

3 益生菌修复*H. pylori*引起的生物屏障破坏

健康状态下,由于胃内pH值较低,常驻菌群数量相应的较少,但其种类较丰富,以厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为主^[20,21]。胃内菌群的种类与比例和口腔内菌群相似^[20,22],这印证了胃内细菌主要来源为经口食入。

*H. pylori*感染对于胃内正常菌群的结构以及数量有所影响,破坏了黏膜的生物屏障作用。研究显示,当*H. pylori*阳性时,胃内细菌培养以*H. pylori*为主^[23],可达93%-97%,厚壁菌门、放线菌门及拟杆菌门数量大幅降低,非*H. pylori*变形菌、兼性厌氧菌数量有所上升,胃内菌群多样性降低^[20,24]。除此之外,抗生素的应用对于消化系菌群也有着重要的影响。Hedvig等^[25]对应用抗生素治疗胃部不适患者治疗前及治疗后口腔以及粪便内菌群的数量和种类进行分析,发现抗生素的应用能够显著降低这两个位置的细菌多样性,其中放线菌门数量明显降低,且菌群状态恢复至治疗前水平所需时间最长达4年。由此我们大胆猜测*H. pylori*感染后导致持续感染、溃疡、胃炎、胃癌的发生与*H. pylori*感染以及抗

生素使用所致胃内生物屏障破坏密切相关。

Mukai等^[26]发现*L. reuteri*通过与*H. pylori*竞争上皮细胞表面中相同的糖基位点,使得*H. pylori*失去黏附位点而被排出体外。有动物实验显示预先用乳酸杆菌和双歧杆菌灌胃能够有效地阻止小鼠胃内*H. pylori*的定植^[14]。*Lactobacillus johnsonii* La1(LC1)能够有效抑制蒙古沙鼠胃黏膜上*H. pylori*的定植^[27]。Myllyluoma等和Jensen等^[28,29]关于多种益生菌在体外对于*H. pylori*抑制作用的实验得出结论,乳酸杆菌、双歧杆菌以及丙酸杆菌的多个菌株能够有效的抑制*H. pylori*对Caco-2细胞的黏附。这些结果证明了益生菌与*H. pylori*之间存在拮抗作用,能够抑制*H. pylori*的黏附,修复生物屏障的破坏。

4 益生菌修复*H. pylori*引起的机械屏障破坏

消化系上皮组织由上皮细胞及细胞间的上皮连接构成,上皮连接分为紧密连接、黏合连接、桥粒和间隙连接。益生菌能够修复紧密连接以及黏合连接,使得*H. pylori*不易到达上皮深处,从而提高抗生素的根除效果。

4.1 对紧密连接的修复 紧密连接由多种具有功能的蛋白组成,包括连接黏附分子(junction adhesion molecule, JAM)-1、闭合蛋白、封闭蛋白、闭锁小带蛋白(zonula occlude, ZO)-1等,这些蛋白能够防止物质自上皮间通过^[30]。*H. pylori*感染后,细胞毒素相关蛋白A(CagA)进入胃黏膜上皮细胞,引起ZO-1从紧密连接移位至细菌附着部位^[31-33]。空泡毒素A(VacA)也能帮助松懈紧密连接^[34]。*H. pylori*产生的铵盐能够介导闭合蛋白的功能,同时能够上调IL-1 I型受体的磷酸化^[35],破坏紧密连接^[36]。这些作用使得胃上皮紧密连接打开,上皮通透性增加,*H. pylori*能够到达上皮更深处。乳酸杆菌菌株WCFS1在人体内能够提高人胃黏膜ZO-1的水平和闭合蛋白的水平,离体时能够促进ZO-1定位于紧密连接处,提高黏膜屏障作用^[37]。尽管,目前关于益生菌修复*H. pylori*引起的胃黏膜紧密连接损伤的报道并不多,然而其修复其他原因引起的消化系屏障功能损伤的报道却十分丰富。在炎症性肠病、感染性结肠炎、急性胃黏膜损伤等模型中,益生菌能够防止ZO-1、闭合蛋白、封闭蛋白的丢失,维持黏膜屏障功能^[36,38,39]。这些让我们有理由相信,益生菌在修复*H. pylori*引起的胃黏膜上皮紧密连接破坏中,有着可观的研究前景。

4.2 对黏合连接的修复 黏合连接中E钙蛋白是微

生物黏附的主要受体。*H. pylori*分泌的产物能够引起编码E钙蛋白的*CDH1*基因甲基化,以及E钙蛋白的细胞外域水解,使得上皮细胞间的黏合连接松解,这些都有利于*H. pylori*定植于胃黏膜,引起病理性变化^[40]。研究表明,在T84细胞屏障模型中,乳酸杆菌能够调节编码E钙蛋白以及β钙蛋白基因的表达水平,稳定黏膜屏障,提高对致病菌的抵抗能力^[41]。

5 益生菌修复*H. pylori*引起的免疫屏障破坏

致病菌进入消化系后可引起免疫系统恰当的激活,消除致病菌。*H. pylori*感染后一方面可能引起免疫逃逸,导致*H. pylori*持续感染。另一方面会引起Smad7、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)以及白介素-8(interleukin-8, IL-8)等细胞因子水平过度升高,介导免疫反应,引起胃黏膜上皮细胞的损伤。益生菌能够平衡多种细胞因子的水平,促进*H. pylori*的清除,同时降低过度炎症反应。Wiese等^[42]的研究表明与单纯*H. pylori*刺激相比,*H. pylori*和乳酸杆菌联合刺激能够提高INF-γ水平,促进单核细胞MHC-II(如HLA-DR)分子表达,加强抗原呈递作用,降低*H. pylori*免疫逃逸的发生,从而有助于*H. pylori*的根除。一项离体实验证明高剂量的嗜酸乳杆菌能够导致Smad7和NF-κB途径失活,从而减轻*H. pylori*感染所引起的炎症反应^[43-45]。植物乳杆菌B7能够降低*H. pylori*感染大鼠血清TNF-α水平,使多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fat acids, PUFAs)的主要氧化产物丙二醛水平降低,降低胃黏膜上皮细胞凋亡率,以上作用与细菌数量正相关,pH = 4时较7时作用显著^[46]。含共轭亚油酸(由乳酸杆菌产生)的培养基能够抑制*H. pylori*引起的IL-8 mRNA以及TNF-α mRNA的升高,在抗炎反应以及抗癌变反应中起到了重要的作用^[45]。一项在儿童中进行的研究显示,向*H. pylori*感染的儿童补充含有益生菌的酸奶,患儿血清中IL-6水平有所下降,IgA和胃蛋白酶原水平有所上升,这些都有助于抑制*H. pylori*在胃黏膜的定植^[47],恢复胃黏膜的免疫屏障作用,提高根除效果。

6 结论

正常情况下,消化系具有屏障作用,对于致病菌有着一定的防御功能。消化系内寄居着大量的微生物,不同部位的菌群构成差别较大。胃内由于特殊的低pH环境,微生物数量相对较少,但

■创新盘点

近年来报道益生菌提高*H. pylori*根除率的文章日趋增多,但关于益生菌这一作用的机制却众说纷纭。本文旨在从修复黏膜屏障的角度为益生菌在*H. pylori*相关疾病治疗中的应用提供证据。

■应用要点

本文为益生菌在治疗*H. pylori*相关疾病的临床应用提供有力的证据。

菌群种类丰富。Linz等^[4]认为*H. pylori*在50000年前就开始寄居于人体内,并随人类共同进化。*H. pylori*可导致胃部多种疾病的发生,一直被认为是一种致病菌,因此一直致力于通过了解*H. pylori*的生物学特性来提高*H. pylori*的根除率,从而治疗*H. pylori*所引起的相关疾病。然而,随着传统三联疗法对于*H. pylori*根除率的下降,以及不良反应的增多,探索新的治疗方案成为了一项紧迫的任务。是否能够通过添加益生菌来恢复胃黏膜屏障功能,阻断*H. pylori*所引起的病理变化,并辅助根除*H. pylori*。本文通过总结近年来有关益生菌治疗*H. pylori*的研究,得出初步结论:益生菌能够稳定胃黏膜屏障,修复*H. pylori*引起的黏膜屏障破坏,在三联疗法的基础上加入益生菌有助于*H. pylori*的根除。然而关于益生菌菌株的选择、剂量、给予时间等具体问题尚无定论^[48]。关于*H. pylori*与消化系内菌群的关系以及*H. pylori*相关疾病的治疗仍然存在极大的盲区需要我们去探索。

7 参考文献

- Navarro-Rodriguez T, Silva FM, Barbuti RC, Mattar R, Moraes-Filho JP, de Oliveira MN, Bogsan CS, Chinzon D, Eisig JN. Association of a probiotic to a *Helicobacter pylori* eradication regimen does not increase efficacy or decreases the adverse effects of the treatment: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 56 [PMID: 23530767 DOI: 10.1186/1471-230X-13-56]
- Ahmad K, Fatemeh F, Mehri N, Maryam S. Probiotics for the treatment of pediatric *helicobacter pylori* infection: a randomized double blind clinical trial. *Iran J Pediatr* 2013; 23: 79-84 [PMID: 23446685]
- Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 Suppl 1: 3-15 [PMID: 11849122]
- Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, Falush D, Stamer C, Prugnolle F, van der Merwe SW, Yamaoka Y, Graham DY, Perez-Trallero E, Wadstrom T, Suerbaum S, Achtman M. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature* 2007; 445: 915-918 [PMID: 17287725]
- Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH, Guo CY, Xu P, Gong YF, Li ZS. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6302-6307 [PMID: 23180952 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6302]
- Lesbros-Pantoflickova D, Corthésy-Theulaz I, Blum AL. *Helicobacter pylori* and probiotics. *J Nutr* 2007; 137: 812S-818S [PMID: 17311980]
- Wang ZH, Gao QY, Fang JY. Meta-analysis of the efficacy and safety of *Lactobacillus*-containing and *Bifidobacterium*-containing probiotic compound preparation in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 25-32 [PMID: 23090045 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318266f6cf]
- Wilhelm SM, Johnson JL, Kale-Pradhan PB. Treating bugs with bugs: the role of probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori*. *Ann Pharmacother* 2011; 45: 960-966 [PMID: 21693698 DOI: 10.1345/aph.1Q104]
- Yaşar B, Abut E, Kayadibi H, Toros B, Sezıklı M, Akkan Z, Keskin Ö, Övünç Kurdaş O. Efficacy of probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21: 212-217 [PMID: 20931422]
- Hurdud V, Plesca D, Dragomir D, Sajin M, Vandenas Y. A randomized, open trial evaluating the effect of *Saccharomyces boulardii* on the eradication rate of *Helicobacter pylori* infection in children. *Acta Paediatr* 2009; 98: 127-131 [PMID: 18681892 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2008.00977.x]
- Tolone S, Pellino V, Vitaliti G, et al. Evaluation of *Helicobacter Pylori* eradication in pediatric patients by triple therapy plus lactoferrin and probiotic-compared to triple therapy alone. *Ital J Pediatr* 2012; 12: 38: 63 [DOI: 10.1186/1824-7288-38-63]
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-484 [PMID: 19043404 DOI: 10.1038/nature07540]
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LC. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev* 2010; 90: 859-904 [DOI: 10.1152/physrev.00045.2009]
- 刘翔, 杨涛, 林红. 胃内微生态环境对Hp感染BALBc小鼠的影响. *中国现代医学杂志* 2010; 20: 3552-3555
- Varbanova M, Schulz C, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and other gastric bacteria. *Dig Dis* 2011; 29: 562-569 [PMID: 22179212 DOI: 10.1159/000332989.]
- El-Adawi H, El-Sheekh M, Khalil M, El-Deeb N, Hussein M. Lactic acid bacterial extracts as anti-*Helicobacter pylori*: a molecular approach. *Ir J Med Sci* 2013; 182: 439-452 [PMID: 23404362 DOI: 10.1007/s11845-013-0909-y]
- Hsieh PS, Tsai YC, Chen YC, Teh SF, Ou CM, King VA. Eradication of *Helicobacter pylori* infection by the probiotic strains *Lactobacillus johnsonii* MH-68 and *L. salivarius* ssp. *salicinius* AP-32. *Helicobacter* 2012; 17: 466-477 [PMID: 23067294 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00992.x]
- Celli JP, Turner BS, Afdhal NH, Keates S, Ghiran I, Kelly CP, Ewoldt RH, McKinley GH, So P, Erramilli S, Bansil R. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 14321-14326 [PMID: 19706518 DOI: 10.1073/pnas.0903438106]
- Gomi A, Harima-Mizusawa N, Shibahara-Sone H, Kano M, Miyazaki K, Ishikawa F. Effect of *Bifidobacterium bifidum* BF-1 on gastric protection and mucin production in an acute gastric injury rat model. *J Dairy Sci* 2013; 96: 832-837 [PMID: 23200466 DOI: 10.3168/jds.2012-5950]
- Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008; 3: e2836 [PMID: 18665274 DOI: 10.1371/journal.pone.0002836]
- Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vi-

- torino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, Brodie EL, Dominguez-Bello MG. Structure of the human gastric bacterial community in relation to *Helicobacter pylori* status. *ISME J* 2011; 5: 574-579 [PMID: 20927139 DOI: 10.1038/ismej]
- 22 Bik EM, Long CD, Armitage GC, Loomer P, Emerson J, Mongodin EF, Nelson KE, Gill SR, Fraser-Liggett CM, Relman DA. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *ISME J* 2010; 4: 962-974 [PMID: 20336157 DOI: 10.1038/ismej.2010.30]
- 23 Li XX, Wong GL, To KF, et al. Bacterial microbiota profiling in stomachs with and without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One* 2009; 4: e7985 [DOI: 10.1371/journal.pone.0007985]
- 24 Madden JA, Plummer SF, Tang J, Garaiova I, Plummer NT, Herbison M, Hunter JO, Shimada T, Cheng L, Shirakawa T. Effect of probiotics on preventing disruption of the intestinal microflora following antibiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1091-1097 [PMID: 15829425]
- 25 Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5: e9836 [PMID: 20352091 DOI: 10.1371/journal.pone.0009836]
- 26 Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 32: 105-110 [PMID: 11821231]
- 27 Isobe H, Nishiyama A, Takano T, Higuchi W, Nakagawa S, Taneike I, Fukushima Y, Yamamoto T. Reduction of overall *Helicobacter pylori* colonization levels in the stomach of Mongolian gerbil by *Lactobacillus johnsonii* La1 (LC1) and its in vitro activities against *H. pylori* motility and adherence. *Biosci Biotechnol Biochem* 2012; 76: 850-852 [PMID: 22484956]
- 28 Myllyluoma E, Ahonen AM, Korpela R, Vapaatalo H, Kankuri E. Effects of multispecies probiotic combination on *Helicobacter pylori* infection in vitro. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 1472-1482 [PMID: 18579692 DOI: 10.1128/CVI.00080-08]
- 29 Jensen H, Grimmer S, Naterstad K, Axelsson L. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 2012; 153: 216-222 [PMID: 22177712 DOI: 10.1016/j.jfoodmicro]
- 30 Wessler S, Backert S. Molecular mechanisms of epithelial-barrier disruption by *Helicobacter pylori*. *Trends Microbiol* 2008; 16: 397-405 [PMID: 18619844 DOI: 10.1016/j.tim.2008.05.005]
- 31 Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, Tompkins LS, Nelson WJ, Falkow S. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. *Science* 2003; 300: 1430-1434 [PMID: 12775840]
- 32 Bagnoli F, Buti L, Tompkins L, Covacci A, Amieva MR. *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 16339-16344 [PMID: 16258069]
- 33 Guttman JA, Finlay BB. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788: 832-841 [PMID: 19059200 DOI: 10.1016/j.bbame] 34 Wroblewski LE, Shen L, Ogden S, Romero-Gallo J, Lapierre LA, Israel DA, Turner JR, Peek RM. *Helicobacter pylori* dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation. *Gastroenterology* 2009; 136: 236-246 [PMID: 18996125 DOI: 10.1053/j.gastro]
- 35 Lapointe TK, O'Connor PM, Jones NL, Menard D, Buret AG. Interleukin-1 receptor phosphorylation activates Rho kinase to disrupt human gastric tight junctional claudin-4 during *Helicobacter pylori* infection. *Cell Microbiol* 2010; 12: 692-703 [PMID: 20070312 DOI: 10.1111/j.1462-5822.2010.01429.x]
- 36 Lytton SD, Fischer W, Nagel W, Haas R, Beck FX. Production of ammonium by *Helicobacter pylori* mediates occludin processing and disruption of tight junctions in Caco-2 cells. *Microbiology* 2005; 151: 3267-3276 [PMID: 16207910]
- 37 Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer RJ, Wells JM. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G851-G859 [PMID: 20224007 DOI: 10.1152/ajpgi.00327.2009]
- 38 Mennigen R, Nolte K, Rijcken E, Utech M, Loeffler B, Senninger N, Bruewer M. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1140-G1149 [PMID: 19221015 DOI: 10.1152/ajpgi.90534.2008]
- 39 Qin H, Zhang Z, Hang X, Jiang Y. *L. plantarum* prevents enteroinvasive *Escherichia coli*-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells. *BMC Microbiol* 2009; 9: 63 [PMID: 19331693 DOI: 10.1186/1471-2180-9-63]
- 40 Costa AM, Leite M, Seruca R, Figueiredo C. Adherens junctions as targets of microorganisms: a focus on *Helicobacter pylori*. *FEBS Lett* 2013; 587: 259-265 [PMID: 23262219 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.12.008]
- 41 Hummel S, Veltman K, Cichon C, Sonnenborn U, Schmidt MA. Differential targeting of the E-Cadherin/ β -Catenin complex by gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 1140-1147 [PMID: 22179242 DOI: 10.1128/AEM.06983-11]
- 42 Wiese M, Eljaszewicz A, Andryszyk M, Gronek S, Gackowska L, Kubiszewska I, Kaszewski W, Helmin-Basa A, Januszewska M, Motyl I, Wiczynska J, Michalkiewicz J. Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* and *Helicobacter pylori* CagA on the expression of selected superficial molecules on monocyte and lymphocyte and the synthesis of cytokines in whole blood culture. *J Physiol Pharmacol* 2012; 63: 217-224 [PMID: 22791635]
- 43 Yang YJ, Chuang CC, Yang HB, Lu CC, Sheu BS. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates *H. pylori*-induced gastric inflammation by inactivating the Smad7 and NF κ B pathways. *BMC Microbiol* 2012; 12: 38 [PMID: 22429929 DOI: 10.1186/1471-2180-12-38]
- 44 Lee JS, Paek NS, Kwon OS, Hahm KB. Anti-inflammatory actions of probiotics through activating suppressor of cytokine signaling (SOCS) expression and signaling in *Helicobacter pylori* infection: a novel mechanism. *J Gastroenterol Hepatol*

同行评价

提高幽门螺杆菌除率是目前临床研究热点, 本文从益生菌角度出发, 选题具有一定新意。

- 2010; 25: 194-202 [PMID: 20136974 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06127.x]
- 45 Hwang SW, Kim N, Kim JM, Huh CS, Ahn YT, Park SH, Shin CM, Park JH, Lee MK, Nam RH, Lee HS, Kim JS, Jung HC, Song IS. Probiotic suppression of the *H. pylori*-induced responses by conjugated linoleic acids in a gastric epithelial cell line. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2012; 86: 225-231 [PMID: 22521089 DOI: 10.1016/j.plefa.2012.04.002]
- 46 Sunanlignanon C, Thong-Ngam D, Tumwasorn S, Klaikeaw N. *Lactobacillus plantarum* B7 inhibits *Helicobacter pylori* growth and attenuates gastric inflammation. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2472-2480 [PMID: 22654444 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2472]
- 47 Yang YJ, Sheu BS. Probiotics-containing yogurts suppress *Helicobacter pylori* load and modify immune response and intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori*-infected children. *Helicobacter* 2012; 17: 297-304 [PMID: 22759330 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00941.x]
- 48 Matsushima M, Takagi A. "Is it effective?" to "How to use it?": the era has changed in probiotics and functional food products against *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 851-853 [PMID: 22515805 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07094.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析

戴依慧, 高青, 王锦

戴依慧, 高青, 王锦, 重庆医科大学附属第一医院消化内科
重庆市 400016

戴依慧, 消化内科在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由高青与戴依慧设计; 戴依慧与王锦负责
资料收集、文献纳入与排除、数据提取、数据分析; 本论文写
作由戴依慧与高青完成; 高青审校。

通讯作者: 高青, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗友谊
路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科。

gaoqing27@aliyun.com

电话: 023-89012020

收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-14

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-08

Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis

Yi-Hui Dai, Qing Gao, Jin Wang

Yi-Hui Dai, Qing Gao, Jin Wang, Department of Gastro-
enterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medi-
cal University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Qing Gao, Chief Physician, Depart-
ment of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of
Chongqing Medical University, 1 Youyi Road, Yuzhong
District, Chongqing 400016,
China. gaoqing27@aliyun.com

Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-14

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To analyze risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation (EVL) to provide evidence for clinical use of preventive measures.

METHODS: Seven papers reporting risk factors for early rebleeding after EVL were analyzed by meta-analysis. Pooled odds ratio (OR), weighted mean difference (WMD) and 95% confidence interval (CI) were calculated.

RESULTS: Severe grade of esophageal varices (OR = 0.04, 95%CI: 0.02, 0.08), Child-Pugh classification C (OR = 0.03, 95%CI: 0.01, 0.07), presence of a moderate to large amount of ascites (OR = 0.00, 95%CI: 0.00, 0.01), thrombus of the portal vein (OR = 0.12, 95%CI: 0.07, 0.22), and a history of diabetes (OR = 0.36, 95%CI: 0.18, 0.72) were risk factors

for early rebleeding after EVL. Moderate grade of esophageal varices (OR = 17.53, 95%CI: 8.51, 36.12), Child-Pugh classification A (OR = 4.24, 95%CI: 2.73, 6.58), Child-Pugh classification B (OR = 3.86, 95%CI: 2.55, 5.85), absence or presence of a small amount of ascites (OR = 245.37, 95%CI: 108.35, 555.64), small width of the portal vein (WMD = -2.45, 95%CI: -3.92, -0.99), few number of varices (WMD = -1.37, 95%CI: -1.72, -1.01), few number of ligated veins (WMD = -1.72, 95%CI: -1.95, -1.50), high level of hemoglobin (WMD = 13.72, 95%CI: 2.35, 25.09), short prothrombin time (PT) (WMD = -3.54, 95%CI: -4.84, -2.24), low level of alanine aminotransferase (WMD = -6.48, 95%CI: -11.59, -1.36), low level of total bilirubin (WMD = -8.01, 95%CI: -12.04, -3.98), high level of prothrombin activity (WMD = 11.03, 95%CI: 6.09, 15.96), and few number of bands used (WMD = -1.49, 95%CI: -1.64, -1.33) were protective factors for early rebleeding after EVL. Mild grade of esophageal varices had no significant correlation with early rebleeding after EVL.

CONCLUSION: Improving Child-Pugh classification and blood coagulation function and decreasing the amount of ascites can reduce the risk for early rebleeding after EVL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal varices; EVL; Risk factors; Meta-analysis

Dai YH, Gao Q, Wang J. Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2987-2993 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2987.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2987>

摘要

目的: 综合分析食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)后早期再出血的危险因素, 为制定相关预防措施提供临床依据。

方法: 应用Meta分析的方法, 对有关食管静脉

■背景资料

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化的严重并发症, 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的重要方法, 但EVL术后早期再出血危险极大。如何避免或预防EVL术后早期再出血至关重要, 然而国内外关于EVL术后早期再出血的危险因素的相关研究结果有较大的差异。

■同行评议者

黄晓东, 主任医师, 武汉市中心医院消化内科

■ 研究前沿

多项研究认为肝功能Child-Pugh分级、腹水量、门静脉宽度、曲张静脉根数与食管静脉曲张套扎术后早期再出血密切相关。相关研究认为套扎联合药物如奥曲肽、心得安或其他方法可减小EVL术后早期再出血的风险。

曲张套扎术后早期再出血危险因素相关的7篇文献进行综合分析, 计算各个可疑危险因素的合并比值比(odds ratio, OR)或加权均数差(weighted mean difference, WMD)及其95%可信区间(95%CI)。

结果: Grade分级重度(OR = 0.04, 95%CI: 0.02, 0.08)、Child-Pugh 分级C(OR = 0.03, 95%CI: 0.01, 0.07)、腹水量(中量-大量)(OR = 0.00, 95%CI: 0.00, 0.01)、门静脉血栓(OR = 0.12, 95%CI: 0.07, 0.22)、既往有糖尿病病史(OR = 0.36, 95%CI: 0.18, 0.72)为EVL术后早期再出血的危险因素; 而Grade分级中度(OR = 17.53, 95%CI: 8.51, 36.12)、Child-Pugh分级A(OR = 4.24, 95%CI: 2.73, 6.58)或B(OR = 3.86, 95%CI: 2.55, 5.85)、腹水量(无-少量)(OR = 245.37, 95%CI: 108.35, 555.64)、门静脉宽度小(WMD = -2.45, 95%CI: -3.92, -0.99)、曲张静脉根数少(WMD = -1.37, 95%CI: -1.72, -1.01)、结扎静脉根数少(WMD = -1.72, 95%CI: -1.95, -1.50)、血红蛋白含量高(WMD = 13.72, 95%CI: 2.35, 25.09)、凝血酶原时间短(WMD = -3.54, 95%CI: -4.84, -2.24)、丙氨酸氨基转移酶数值低(WMD = -6.48, 95%CI: -11.59, -1.36)、总胆红素含量低(WMD = -8.01, 95%CI: -12.04, -3.98)、凝血酶原活动度高(WMD = 11.03, 95%CI: 6.09, 15.96)、套扎所用皮圈数目少(WMD = -1.49, 95%CI: -1.64, -1.33)为EVL术后早期再出血的保护因素; Grade分级轻度与EVL术后早期再出血关系不显著。

结论: 通过改善肝功能Child-Pugh分级C级、减少腹水量、改善凝血功能等方法, 可减少EVL术后早期再出血的风险。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管静脉曲张; 套扎术; 危险因素; Meta分析

核心提示: 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法, 现已广泛运用于临床, 然而EVL术后早期再出血常危及患者生命。本文通过Meta分析的方法初步确定了多个EVL术后早期再出血的危险因素, 预防或避免这些危险因素, 一定程度上可减小EVL术后早期再出血的风险。

戴依慧, 高青, 王锦. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2987-2993
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2987.asp> DOI:

<http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.2987>

0 引言

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化的严重并发症, 出血量大, 病情凶险, 病死率高。内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法^[1,2], 但术后早期再出血的发生常危及病人生命。肝静脉压力梯度^[3]是预测EVL术后早期再出血的可靠指标, 但该项检查的有创性限制了其在临床上的应用。准确预测EVL术后早期再出血的危险因素, 对于预防套扎术后早期再出血、改善预后都非常重要。然而, 国内外关于EVL术后早期再出血的危险因素的相关研究结果有较大的差异。因此, 本文对国内外有关食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的相关文献进行了Meta分析, 为制定相关预防措施提供临床依据。

1 材料和方法

1.1 材料 通过检索PubMed数据库、Medline数据库、中国生物医学文献数据库(CBM)、Elsevier数据库、OVID数据库、重庆维普中文数据库、中文科技期刊全文数据库和中国学术期刊全文数据库等数据库, 搜集相关文献, 不能获取的文献通过重庆医科大学图书馆手工检索获得。检索时间为建库至2013-04。中文检索词为“食管静脉曲张”、“出血”、“套扎”, 英文检索词为“esophagus或esophageal”、“variceal或varices”、“bleeding或hemorrhage”、“ligation或loop ligation”。最后, 为提高文献的查全率, 查阅所有入选文献所引用的参考文献。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)文献为前瞻性队列研究或回顾性队列研究; (2)文献均提供可以换算成合并比值比(odds ratio, OR)或加权均数差(weighted mean difference, WMD)及其95%CI的原始数据; (3)涉及食管静脉曲张套扎术后早期再出血危险因素的研究, 相同样本或同一样本来源的多篇文献, 选择其资料数据最全的1篇作为研究对象; (4)文献语种仅限于中文或英文。

1.2.2 排除标准: (1)对未给出原始临床数据, 只有计算后的OR值或WMD及其95%CI的文献, 予以排除; (2)对文献质量太差、重复报告或无法利用数据的文献予以排除。诊断标准: (1)套扎术后

表 1 文献质量评价标准(NOS评价标准)

栏目	条目 ¹	评价标准
研究人群选择	暴露组的代表性如何(1分)	(1)真正代表人群中暴露组的特征 ² ; (2)一定程度上代表了人群中暴露组的特征 ² ; (3)选择某类人群, 如护士、志愿者; (4)未描述暴露组来源情况
	非暴露组的选择方法(1分)	(1)与暴露组来自同一人群 ² ; (2)与暴露组来自不同人群; (3)未描述非暴露组来源情况
	暴露因素的确定方法(1分)	(1)固定的档案记录(如外科手术记录) ² ; (2)采用结构式访谈 ² ; (3)研究对象自己写的报告; (4)未描述
组间可比性	确定研究起始时尚无要观察的结局指标(1分)	(1)是 ² ; (2)否
	设计和统计分析时考虑暴露组和未暴露组的可比性(2分)	(1)研究控制了最重要的混杂因素 ² ; (2)研究控制了任何其他的混杂因素 ² (词条可以进行修改用以说明特定控制第二重要因素)
结果测量	研究对于结果的评价是否充分(1分)	(1)盲法独立评价 ² ; (2)有档案记录 ² ; (3)自我报告; (4)未描述
	结果发生后随访是否足够长(1分)	(1)是(评价前规定恰当的随访时间) ² ; (2)否
	暴露组和非暴露组的随访是否充分(1分)	(1)随访完整 ² ; (2)有少量研究对象失访但不至于引入偏倚(规定失访率或描述失访情况) ² ; (3)有失访(规定失访率)但未行描述; (4)未描述随访情况

¹给分条目; ²给分点。

表 2 纳入文献的基本特征

作者	年代	未出血组			出血组			质量评分
		<i>n</i>	男/女	平均年龄(岁)	<i>n</i>	男/女	平均年龄(岁)	
李鹏等 ^[4]	2006	565	401/164	51.88 ± 11.51	28	26/2	47.18 ± 10.94	6
邓国孙等 ^[5]	2012	194	138/56	52.44 ± 9.65	22	12/10	60.69 ± 10.16	6
邓应江等 ^[6]	2012	118	79/39	50.42 ± 7.03	12	6/6	61.82 ± 8.17	6
邵晓冬等 ^[7]	2012	30	19/11	52.10 ± 9.51	30	16/14	54.77 ± 10.36	6
Xu等 ^[8]	2011	316	227/89	52.3 ± 11.0	26	15/11	57.5 ± 8.3	6
季峰等 ^[9]	2010	237	163/74	52.44 ± 10.67	22	11/11	59.05 ± 7.31	6
Yang等 ^[10]	2007	77	54/23	61.40 ± 10.32	19	13/6	65.73 ± 10.73	6

早期再出血的定义^[4]: “术后24 h至14 d内再发呕血或黑便, 或胃管内抽出血性液体, 且血红蛋白、红细胞压积进行性下降, 或临床上有低血容量休克证据, 或有出血表现需要输血者。” (2)肝功能分级按Child-Pugh分级标准分为A、B、C 3级; (3)食管静脉曲张诊断标准按Grade分级法分为轻、中、重度。

1.2.3 资料提取: 由2位评价者独立根据纳入排除标准, 对文献进行纳入排除, 通过讨论达成一致。对原始数据的收集也由两位评价者独立完成、多次核对数据。最终纳入7篇相关文献^[4-10]。

1.2.4 质量评价: 参考Newcastle-Ottawa Scale(NOS)量表^[11]对每篇纳入文献进行质量评价, 文献质量评价标准如表1所示, 文献质量评价结果如表2所示。

统计学处理 遵循Meta分析步骤, 在完成文

献检索、数据提取后, 利用Review Manager 5.0软件对数据进行统计学分析。逐一每个可疑危险因素相关的纳入文献进行异质性检验: 如果异质性检验结果为 $P>0.1$, 认为多个研究同质, 采用固定效应模型计算合并统计量; 若 $P\leq 0.1$, 认为多个研究异质, 进一步寻找异质性的原因, 采取剔除导致异质性的文献、亚组分析等方法去除文献异质性, 或采用随机效应模型计算合并统计量。合并效应量选用OR或WMD及其95%CI。敏感性分析: 分别采用固定效应模型和随机效应模型计算各个可疑危险因素的合并统计量, 并比较其结果。两种方法结果的一致性在一定程度上反映了合并结果的可靠性。

2 结果

2.1 文献检索结果 初步检出文献308篇, 其中中

■相关报道

季峰等研究对凝血酶原时间(PT)进行了分层(PT<18 s、PT≥18 s)并指出: 后者EVL术后再出血的风险是前者的23.45倍。同时该研究还指出: EVL术后过早进食硬食是引起套扎术后再出血的独立危险因素, 其风险为流质饮食患者的17.23倍。由此可知, 改善凝血功能与避免过早进食硬食可大大减小EVL术后早期再出血的风险。

■创新盘点

本文应用Meta分析的方法,对有关食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血危险因素相关的文献进行了综合分析(纳入研究中未出血组共1537例,出血组159例),运用统计学方法对各项可疑危险因素进行了分析并得出相应结论。

表 3 各可疑危险因素的异质性检验结果

可疑危险因素	参考文献数目	χ^2 值	P值
Grade分级轻	3	0.00	0.55
Grade分级中	3	5.95	
Grade分级重	3	0.05	
Child-Pugh分级A	6	0.87	8.64
Child-Pugh分级B	6	8.64	
Child-Pugh分级C	6	91.40	
腹水量(无-少量)	3	59.48	<0.00001
腹水量(中量-大量)	3	0.34	
门静脉血栓	5	21.48	0.0003
既往有糖尿病病史	4	1.02	
门静脉宽度	5	68.23	<0.00001
曲张静脉根数	5	31.55	
结扎静脉根数	2	0.06	<0.00001
血红蛋白	2	154.70	
凝血酶原时间	5	12.02	0.02
凝血酶原活动度	2	0.29	
丙氨酸氨基转移酶	4	4.30	5.36
总胆红素	5	5.36	
套扎所用皮圈数目	3	1.28	

文236篇,英文72篇,通过阅读题目和摘要,排除291篇不符合纳入标准的文献,进一步阅读全文,根据相应的纳入排除标准,9篇不符合纳入标准,2篇文献数据来源相同,最终纳入7篇相关文献^[4-10],其中未出血组1537例(男1081例,女456例),出血组159例(男99例,女60例)。

2.2 Meta分析结果

2.2.1 文献异质性检验结果: 逐一一对每个可疑危险因素相关的纳入文献进行异质性检验。异质性检验结果提示:涉及到Grade分级轻度、Grade分级重度、Child-Pugh分级A、Child-Pugh分级B、腹水量(中量-大量)、既往有糖尿病病史、结扎静脉根数、丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、凝血酶原活动度、套扎皮圈数目的相关文献,研究结果具有同质性,故采用固定效应模型计算合并统计量;而涉及到Grade分级中度、Child-Pugh分级C、腹水量(无-少量)、门静脉血栓、门静脉宽度、曲张静脉根数、血红蛋白、凝血酶原时间的相关文献,研究结果具有异质性(表3)。

文献异质性原因分析及统计学处理: (1)Grade分级中度:按照逐一排除法,在剔除李鹏等^[4]文献后Grade分级中度相关文献的异质性消失,并且Grade分级轻度、中度、重度相关文献均同质,按固定效应模型处理。分析异质性原

因,可能与该文献中未出血组Grade分级中度患者比例小,存在选择偏倚有关。(2)Child-Pugh分级C:邵晓东等^[7]文献中Child-Pugh分级C患者比例(5%-14%),在剔除该文献后Child-Pugh分级A、B相关文献均同质,按固定效应模型处理,而Child-Pugh分级C相关文献仍异质,按随机效应模型处理;(3)腹水量(无-少量):邓国孙等^[5]文献中腹水量(无-少量)患者比例小(19%),远远小于其他研究中腹水量(无-少量)患者比例(67%-90%),在剔除该文献后腹水量(无-少量)、腹水量(中量-大量)相关文献均同质,按固定效应模型处理;(4)门静脉血栓、门静脉宽度、曲张静脉根数、血红蛋白、凝血酶原时间:相关文献均为高质量文献,相关文献的分组方法等因素均不会导致文献异质性,故采用随机效应模型处理。

2.2.2 Meta分析结果: (1)Grade分级重度、Child-Pugh分级C、腹水量(中量-大量)、门静脉血栓、既往有糖尿病病史均为EVL术后早期再出血的危险因素;(2)Grade分级中度、Child-Pugh分级A或B、腹水量(无-少量)、门静脉宽度小、曲张静脉根数少、结扎静脉根数少、血红蛋白含量高、凝血酶原时间短、丙氨酸氨基转移酶数值低、总胆红素含量低、凝血酶原活动度高、套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素;(3)Grade分级轻度与EVL术后早期再出血的关系不显著。具体Meta分析结果如表4所示。

2.3 敏感性分析 分别采用固定效应模型和随机效应模型计算各个可疑危险因素的合并统计量,并比较其结果。两种方法结果的一致性在一定程度上反映了合并结果的可靠性。结果提示:Grade分级中度、腹水量(无-少量)、血红蛋白三项可疑危险因素采用两种模型计算结果相差较大,提示其结果欠可靠,考虑与上述三项可疑危险因素纳入的参考文献数目太少有关。余指标两种模型计算结果较一致,提示其合并计算结果较可靠(表5)。

3 讨论

内镜下食管静脉曲张套扎术是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法,然而EVL术后早期再出血是该方法的一大风险,清楚地认识EVL术后早期再出血的危险因素,对于预防EVL术后

表 4 各可疑危险因素的Meta分析结果

可疑危险因素	未出血组(n1/n)	出血组(n2/n1)	OR或WMD(95%CI)	P值
Grade分级轻	18/355	0/34	3.15(0.60, 16.66)	
Grade分级中	241/355	0/34	17.53(8.51, 36.12)	<0.00001
Grade分级重	96/355	34/34	0.04(0.02, 0.08)	<0.00001
Child-Pugh分级A	335/942	5/101	4.24(2.73, 6.58)	<0.00001
Child-Pugh分级B	537/942	23/101	3.86(2.55, 5.85)	<0.00001
Child-Pugh分级C	70/942	73/101	0.03(0.01, 0.07)	<0.00001
腹水量(无-少量)	500/553	9/48	245.37(108.35, 555.64)	<0.00001
腹水量(中量-大量)	53/553	39/48	0.00(0.00, 0.01)	<0.00001
门静脉血栓	79/854	51/119	0.12(0.07, 0.22)	<0.00001
既往有糖尿病病史	96/1148	21/106	0.36(0.18, 0.72)	0.003
门静脉宽度(mm)	1342	128	-2.45(-3.92, -0.99)	0.001
曲张静脉根数	1430	110	-1.37(-1.72, -1.01)	<0.00001
结扎静脉根数	312	34	-1.72(-1.95, -1.50)	<0.00001
血红蛋白(g/L)	1419	147	13.72(2.35, 25.09)	0.02
凝血酶原时间(s)	895	112	-3.54(-4.84, -2.24)	<0.00001
凝血酶原活动度	683	40	11.03(6.09, 15.96)	<0.0001
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	1236	88	-6.48(-11.59, -1.36)	0.01
总胆红素(μmol/L)	1266	118	-8.01(-12.04, -3.98)	<0.0001
套扎所用皮圈数目	1118	76	-1.49(-1.64, -1.33)	<0.00001

■应用要点

通过改善肝功能Child-Pugh分级C级、减少腹水量、改善凝血功能、减小门静脉宽度等方法,可减少食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血的风险,一定程度上可降低套扎术后患者的死亡率。

表 5 固定效应模型和随机效应模型计算结果比较

可疑危险因素	固定效应模型OR或WMD(95%CI)	随机效应模型OR或WMD(95%CI)
Grade分级轻	3.15(0.60, 16.66)	2.00(0.26, 15.44)
Grade分级中	17.53(8.51, 36.12)	70.11(9.45, 520.00)
Grade分级重	0.04(0.02, 0.08)	0.01(0.00, 0.08)
Child-Pugh分级A	4.24(2.73, 6.58)	7.18(2.97, 17.36)
Child-Pugh分级B	3.86(2.55, 5.85)	4.18(2.14, 8.15)
Child-Pugh分级C	0.00(0.00, 0.01)	0.03(0.01, 0.07)
腹水量(无-少量)	245.37(108.35, 555.64)	39.65(18.11, 86.83)
腹水量(中量-大量)	0.00(0.00, 0.01)	0.03(0.01, 0.06)
门静脉血栓	0.05(0.03, 0.09)	0.12(0.07, 0.22)
既往有糖尿病病史	0.36(0.18, 0.72)	0.44(0.24, 0.81)
门静脉宽度(mm)	-2.78(-3.12, -2.43)	-2.45(-3.92, -0.99)
曲张静脉根数	-1.33(-1.46, -1.21)	-1.37(-1.72, -1.01)
结扎静脉根数	-1.72(-1.95, -1.50)	-1.72(-1.95, -1.50)
血红蛋白(g/L)	4.71(3.60, 5.83)	13.72(2.35, 25.09)
凝血酶原时间(s)	-3.76(-4.49, -3.04)	-3.54(-4.84, -2.24)
凝血酶原活动度	11.03(6.09, 15.96)	11.03(6.09, 15.96)
丙氨酸转移酶(U/L)	-6.48(-11.59, -1.36)	-7.54(-14.52, -0.56)
总胆红素(μmol/L)	-8.01(-12.04, -3.98)	-9.14(-14.56, -3.73)
套扎所用皮圈数目	-1.49(-1.64, -1.33)	-1.49(-1.64, -1.33)

早期再出血、改善预后都非常重要。

本研究发现, Child-Pugh分级C、腹水量(中量-大量)^[13]为食管静脉曲张破裂出血的危险因素, 且均为高度关联。Child-Pugh分级C是腹水

量、凝血酶原时间、胆红素、血清白蛋白、肝性脑病5项指标综合评分的结果, 5项指标间的相互影响及作用尚待进一步研究。相关研究^[14]指出, Child-Pugh分级是EVL术后早期再出血的独

■同行评价

本文对国内外有关食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血的危险因素的相关文献进行了Meta分析,为制定相关预防措施提供了临床依据。文章具有一定的科学性、创新性,其研究内容较为重要,有一定的临床应用价值。

立危险因素之一。Child-Pugh C患者凝血功能差, EVL术后套扎静脉内不易形成血栓,套圈容易脱落,易形成浅溃疡,从而易发生EVL术后早期再出血。肝硬化门脉高压腹水的形成机制中,低蛋白血症是其中一项重要原因^[15],因而血清白蛋白与腹水量两项指标是相互有关联的。

本研究发现,套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素。结合临床,笔者考虑套扎所用皮圈数目少可能为食管静脉曲张程度轻的一项表现,因食管静脉曲张程度轻是EVL术后早期再出血的保护因素,从而得到了套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素的结果。纳入研究中未提供套扎所用皮圈数目与食管静脉曲张程度的关系,故未进行进一步研究。纳入文献中涉及摄入硬食、血甲胎蛋白、细菌感染、天门冬氨酸氨基转移酶、出血次数、空腹血糖等可疑危险因素的各相关文献仅1篇,偏倚较大,故本文未对其进行分析。有研究报道^[10]细菌感染是EVL术后早期再出血的独立危险因素,同时早期再出血^[16,17]的患者也更易发生细菌感染。某些相关研究表明^[9,18],摄入硬食为EVL术后早期再出血的危险因素。硬食对食管的机械性摩擦较大,可划破食管或造成套扎圈过早脱落,从而导致出血。但关于硬食的定义目前尚无统一标准,故难以对该项指标进行客观的评价和分析。

本研究进行数据分析时,研究结果均为单因素分析所得,未能排除各可疑危险因素间的相互作用,该相互作用可能会对研究结果有一定的影响。本研究纳入的文献数目较少也限制了本研究结论的可靠性。此外,本次研究得出的各项危险因素所涉及的文献来源不同,无法直接统计多因素。但本研究初步确定了多个EVL术后早期再出血的危险因素,通过改善肝功能Child-Pugh分级C、减少腹水量、改善凝血功能等方法,可减少EVL术后早期再出血的风险。同时联合其他的方法如β受体阻滞剂等^[19-21]进一步减小EVL术后早期再出血的风险,也是我们需要关注的问题。

4 参考文献

- 1 Ouakaa-Kchaou A, Kharrat J, Mir K, Houada B, Abdelli N, Ajmi S, Azzouz M, Ben Abdallah H, Ben Mami N, Bouzaïdi S, Chouaib S, Golli L, Melki W, Najjar T, Saffar H, Belhadji N, Ghorbel A. Variceal band ligation in the prevention of variceal bleeding: a multicenter trial. *Saudi J Gastroenterol* 2011; 17: 105-109 [PMID: 21372346 DOI: 10.4103/1319-3767.77238]

- 2 Lahbabi M, Elyousfi M, Aqodad N, Elabkari M, Mellouki I, Ibrahim SA, Benajah DA. Esophageal variceal ligation for hemostasis of acute variceal bleeding: efficacy and safety. *Pan Afr Med J* 2013; 14: 95 [PMID: 23717711 DOI: 10.11604/pamj.2013.14.95.1847]
- 3 程留芳, 贾继东, 徐小元, 令狐恩强, 刘玉兰, 冷希圣, 王茂强. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识(2008, 杭州). *内科理论与实践* 2009; 2: 152-158
- 4 李鹏, 张澍田, 于中麟, 于永征, 冀明, 俞力, 焦月, 李丽, 鄢鹏, 刘亚平, 潘锦敦. 内镜下食管静脉曲张结扎术后早期再出血的危险因素分析. *中华消化内镜杂志* 2006; 1: 23-26
- 5 邓国孙. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素分析. *海军医学杂志* 2012; 5: 313-315
- 6 邓应江, 敖智容, 秦红, 刘伟. 影响内镜下食管静脉曲张套扎术疗效的危险因素分析. *西南国防医药* 2012; 10: 1066-1068
- 7 邵晓冬, 郭晓钟, 邹德莉, 崔忠敏, 任丽楠, 赵佳钧, 梁振东. 非侵入性检测指标与食管静脉曲张套扎术后2周内再次出血的关系研究. *现代消化及介入诊疗* 2012; 2: 74-77
- 8 Xu L, Ji F, Xu QW, Zhang MQ. Risk factors for predicting early variceal rebleeding after endoscopic variceal ligation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3347-3352 [PMID: 21876624 DOI: 10.3748/wjg.v17.i28.3347]
- 9 季峰, 徐勤伟, 张咩庆. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素探讨. *中国内镜杂志* 2010; 4: 344-347
- 10 Yang MT, Chen HS, Lee HC, Lin CL. Risk factors and survival of early bleeding after esophageal variceal ligation. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1705-1709 [PMID: 18019699]
- 11 曾宪涛, 刘慧, 陈曦, 冷卫东. Meta分析系列之四: 观察性研究的质量评价工具. *中国循证心血管医学杂志* 2012; 4: 297-299
- 12 Chen WT, Lin CY, Sheen IS, Huang CW, Lin TN, Lin CJ, Jeng WJ, Huang CH, Ho YP, Chiu CT. MELD score can predict early mortality in patients with rebleeding after band ligation for variceal bleeding. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2120-2125 [PMID: 21547132 DOI: 10.3748/wjg.v17.i16.2120]
- 13 杨艳, 樊艳华, 房龙, 高春, 杜时雨, 张明刚, 王远新, 张克俭. 内镜治疗食管胃静脉曲张早期再出血的影响因素分析. *临床肝胆病杂志* 2013; 3: 178-183
- 14 慕海连, 高建飞. 肝功能Child-pugh分级影响套扎治疗食管静脉曲张出血疗效及其机制. *中国医药科学* 2012; 14: 188-189, 191
- 15 刘建军, 李楠, 智红, 吴晓英. 对肝硬化腹水诊治中若干问题的认识与思考. *临床肝胆病杂志* 2012; 09: 701-703
- 16 Lee SW, Lee TY, Chang CS. Independent factors associated with recurrent bleeding in cirrhotic patients with esophageal variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1128-1134 [PMID: 19051032 DOI: 10.1007/s10620-008-0454-0]
- 17 Grothaus J, Petrasch F, Zeynalova S, Mössner J, Schiefke I, Hoffmeister A. Risk factors for bleeding complications after endoscopic variceal ligation therapy. *Z Gastroenterol* 2010; 48: 1200-1206 [PMID: 20886424 DOI: 10.1055/s-0029-1245435]
- 18 雷雅莉, 王莹, 王丽萍, 郭熙锋, 朱浪潮, 刘丽平. 肝硬化食管静脉曲张内镜下套扎治疗后再出血的影响因素. *现代生物医学进展* 2013; 12: 2318-2320
- 19 Lo GH. The role of endoscopy in secondary pro-

- phylaxis of esophageal varices. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 307-323 [PMID: 20682237 DOI: 10.1016/j.cld.2010.03.009]
- 20 常菲菲, 杜雅菊. 食管静脉曲张出血套扎术后再出血的预防及治疗. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2795-2799
- 21 Ayoub WS, Nguyen MH. Combination of pharmacologic and endoscopic therapy for the secondary prevention of esophageal variceal bleeding. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 665-667 [PMID: 19788982 DOI: 10.1016/j.gie.2009.05.035]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成t_{l/2}或T_{1/2}¹, V_{max}不能V_{max}, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.*var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, V_d, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

POEM治疗贲门失迟缓症7例

刘琳, 段树全, 孟宪梅, 党彤, 徐美东

■背景资料

贲门失弛缓症是一种少见的原发性食管动力障碍性疾病。以食管下段括约肌(LES)松弛功能受损, 食管蠕动波减少或消失为特征。由于其发病机制仍不明确, 现有的治疗方式主要以缓解由LES引起的功能性梗阻为目的。目前主要的治疗方式包括气囊扩张术、腹腔镜Heller肌切开术和经口内镜下肌切开术(POEM)。

刘琳, 孟宪梅, 党彤, 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所 内蒙古自治区包头市 014030
段树全, 包头肿瘤医院腹部外科 内蒙古自治区包头市 014030
徐美东, 复旦大学附属中山医院普外科 上海市 200032
刘琳, 硕士, 主要从事消化内镜治疗方面的研究。

作者贡献分布: 刘琳与段树全对此文所作贡献均等; 部分手术由徐美东指导, 党彤、孟宪梅及刘琳共同完成; 数据分析及图片采集由刘琳与段树全完成; 本论文写作由刘琳与段树全完成。

通讯作者: 刘琳, 014030, 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所。41470317@qq.com

收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-26

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases

Lin Liu, Shu-Quan Duan, Xian-Mei Meng, Tong Dang, Mei-Dong Xu

Lin Liu, Xian-Mei Meng, Tong Dang, Institute of Gastroenterology of Inner Mongolia, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014030, Inner Mongolia, China

Shu-Quan Duan, Department of Abdominal Surgery, Baotou Tumor Hospital, Baotou 014030, Inner Mongolia, China

Mei-Dong Xu, Department of General Surgery, Zhongshan Hospital Fudan University, Shanghai 200032, China

Correspondence to: Lin Liu, Institute of Gastroenterology of Inner Mongolia, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014030, Inner Mongolia, China. 41470317@qq.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-26

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of peroral endoscopic myotomy (POEM) in the treatment of achalasia cardia (AC).

METHODS: The clinical data for 7 patients who were diagnosed with AC and received POEM at our center from May 16, 2011 to May 30, 2013 were reviewed. They ranged in age from 20 to 48 years old, with a mean value of 30.4 years. The disease courses lasted for 2 to 15 years. Key procedures of POEM were esophageal mucosal incision, submucosal tunneling by endoscopic

submucosal dissection, endoscopic myotomy of the circular muscle and closure of mucosal entry using hemostatic clips.

RESULTS: POEM was successful in all the patients. Mean operation time was 114 min (range, 55-180 min). Mean submucosal tunneling length was 11.7 cm (range, 10-13 cm). Mean length of endoscopic myotomy of the circular muscle was 9.2 cm (range, 8-11 cm). Two cases underwent full-thickness myotomy. Patients were followed for one year. Five cases of dysphagia were cured, and no obvious effect was observed in two cases.

CONCLUSION: POEM has good short-term efficacy in relieving dysphagia. Further observation is needed to evaluate long-term efficacy and complications.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Achalasia cardia; Myotomy; POEM

Liu L, Duan SQ, Meng XM, Dang T, Xu MD. Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2994-2998 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2994.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2994>

摘要

目的: 探讨经口内镜下肌切开术(peroral endoscopic myotomy, POEM)治疗贲门失弛缓症(achalasia of cardia, AC)的临床疗效。

方法: 研究2011-03-16/2013-05-30确诊为AC并接受POEM治疗的7例患者的临床资料, 患者男5例, 女2例, 年龄20-48岁, 平均30.4岁, 病程持续时间2-15年。POEM主要步骤: 食管黏膜层切开; 分离黏膜下层, 建立黏膜下隧道; 胃镜直视下切开环形肌; 金属夹关闭黏膜层切口。

结果: 7例患者均成功接受POEM手术, 手术时间55-180 min, 平均: 114 min, 环形肌切开长度8-11 cm, 平均9.2 cm, 2例行全层肌切开。隧道切

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

开长度10-13 cm, 平均11.7 cm, 术后随访1年, 5例吞咽困难均明显得到解除, 2例效果不明显。

结论: POEM治疗AC短期疗效确切, 可以迅速缓解患者吞咽困难, 但其长期疗效及远期并发症仍有待随访观察。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 贲门失弛缓症; 肌切开术; POEM

核心提示: 经口内镜下肌切开术其以创伤小、恢复快、费用低被更多的内镜医师所推崇, 但普及却相对困难, 其原因主要是: 手术操作难度高不易掌握。

刘琳, 段树全, 孟宪梅, 党彤, 徐美东. POEM治疗贲门失迟缓7例临床体会. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2994-2998
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2994.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2994>

0 引言

经口内镜下肌切开术(peroral endoscopic myotomy, POEM)伴随科技的进步及新产品、新技术的创新而应用于临床。我院自2011-03-16/2013-05-30共开展POEM手术治疗7例贲门失迟缓症(achalasia of cardia, AC)患者。POEM以其损伤小、恢复快、疗效确切等优点得到广大医生及患者的一致认可^[1]。结合我院病例现就这一新技术的应用展开临床分析。

1 材料和方法

1.1 材料 确诊为AC的患者7例, 其中男性5例, 女性2例, 年龄20-48岁, 平均30.4岁。均无高血压、糖尿病、心脏病病史, 无明显手术禁忌症。排除因胃癌、食管旁迷走神经损伤等因素所致假性AC。病程持续时间2-15年不等, 均未行球囊扩张及手术治疗, 5例患者部分因症状重曾接受过内科对症及中药治疗, 效果欠佳。症状均为进食后呕吐, 非喷射状, 呕吐物为食团, 另有消瘦、反流、胸骨后疼痛及憋胀不适症状, 非持续性, 常因进食硬质食物、寒冷及情绪低落等诱因加重。根据贲门失弛缓症临床症状评分系统(Eckardt评分), 7例患者中5例Ⅱ级症状, 2例Ⅲ级症状^[2]; 影像学检查均具有上消化系造影的典型表现: 食管扩张, 食管蠕动减弱, 食管末端狭窄, 呈“鸟嘴”状, 狭窄部黏膜光滑。另结合食管扩张程度依据Henderson分级: 食管扩张分为3级: I级(轻度), 食管直径<4 cm; II级(中度), 直径4-6

cm; III级(重度), 直径>6 cm。本组为轻度3例, 中度4例。器械: Olympus公司CV-260SL/CV-260主机, GIF-Q260胃镜, INJ1-A1-07.180注射针, FD-411QR /410LR热活检钳, KD-620LR Hook刀, KD-610L型IT刀, HX-610-135金属止血夹(小), BOSTON/SCIENTIFIC 2261金属止血夹(大), ERBE VIO200D高频电切装置, Olympus公司D-201-11802透明帽。

1.2 方法 手术程序: 术前禁食48 h并给予温水冲洗食管, 以消除水肿。术前给予静脉营养和抗菌素预防感染治疗。

患者左侧卧位, 全麻满意后, 先行胃镜检查冲洗食管及胃内黏液, 观察发现食管中下段管腔扩张、扭曲; 齿状线清晰, 贲门口明显狭窄, 胃镜勉强通过(图1A)。内镜前端置透明帽, 应用内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD), 于齿状线上10 cm食管黏膜下注射靛胭脂盐水, 黏膜抬举良好, 应用hook刀纵行开窗后, 沿黏膜下层向下潜行分离至贲门下3 cm, 建立黏膜下层“隧道”(图1B), 翻转胃镜观察胃底黏膜颜色变化, 确定“隧道”建立长度(图1C), 应用hook刀自上(齿状线上7 cm)而下(贲门下2 cm)完全横断环状肌束, 食管胃结合部(esophagogastric junction, EGJ)全层肌切开(图1D)。反复冲洗隧道, 创面止血, 明确无出血吸净冲洗液及CO₂气, 应用止血夹夹闭“隧道”入口(图1E)。仔细检查黏膜有无破损。术毕观察贲门开口明显扩大, 胃镜无阻力顺利通过(图1F)。手术结束, 内镜直视下放置胃肠减压管。

2 结果

手术时间55-180 min, 平均: 114 min, 环形肌切开长度8-11 cm, 平均9.2 cm, 2例行全层肌切开。隧道切开长度10-13 cm, 平均11.7 cm。术后禁食水72 h, 抗菌素应用1 d, 质子泵抑制剂抑酸治疗2 wk(静脉3 d, 口服11 d), 口服黏膜保护剂2 wk。术后3例患者发热, 最高均温度<38.5℃, 考虑为吸收热。术后均无出血、黑便, 1例患者出现颈部及前胸皮下气肿, 吸氧对症治疗好转。均于术后1 wk恢复正常饮食出院, 出院后均无进食后呕吐及咽下困难症状, 治疗效果显著。7例患者随访, 1例患者于术后2 wk后出现胃潴留, 间断呕吐, 复查胃镜: 食管黏膜恢复良好, 止血钛夹已脱落。胃镜通过顺利贲门口, 无明显狭窄, 发现食管及胃蠕动差, 可见食物潴留。考虑胃动力功能下降, 对症给以胃动力药物治疗后, 症状缓解; 另1例

■研发前沿

微创如今是外科医师推崇的目标与方向, 目前POEM是一种新的治疗方式, POEM作为创伤小、安全有效的方法治疗贲门失弛缓症应用于临床, 其长期疗效有待于观察。

■ 相关报道

许多国内外文献对贲门失弛缓症现有的主要治疗方式做了详细报道与对比研究,分别从不同角度讲述各种治疗方式的优缺点,随着内镜医师技术的熟练,POEM的研究文献逐渐增多。

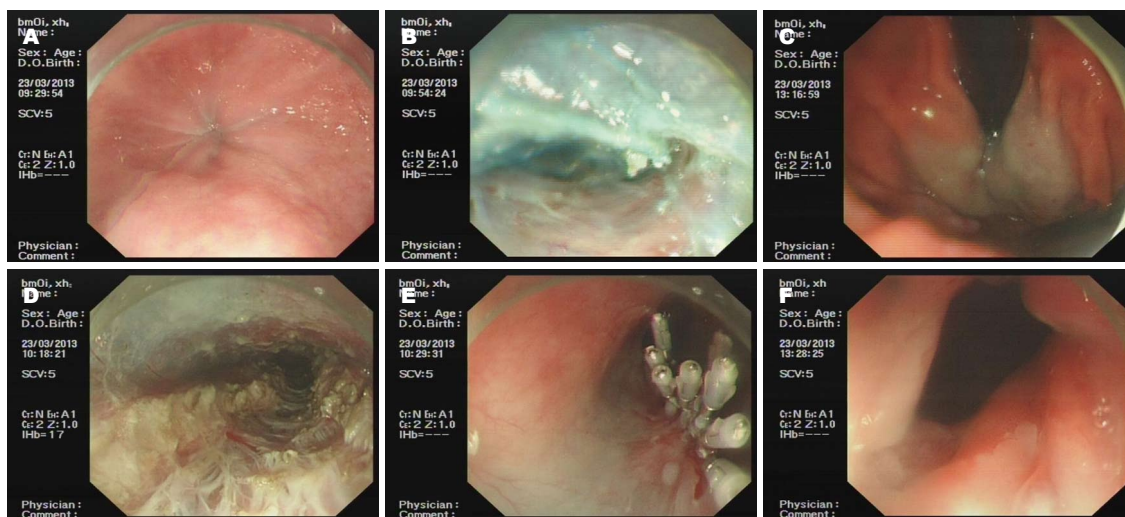


图1 POEM手术过程。A: 术前贲门口狭窄情况; B: 分离黏膜下层, 建立黏膜下隧道; C: 胃底黏膜颜色改变; D: 肌切开情况; E: 黏膜口闭合; F: 术后贲门松弛效果。

患者于术后2 mo出现间断呕吐, 症状不明显, 复查胃镜: 食管扩张较前缓解, 贲门口仍狭窄, 胃镜通过尚可, 无食物潴留。考虑术中肌层切开长度不够, 以及瘢痕挛缩致狭窄。建议行球囊扩张或再行POEM治疗, 患者拒绝治疗, 因症状轻一直随诊。其余5例患者随访至今, 均效果明显, 进食后呕吐、胸骨后疼痛及异物感消失, 咽下顺利, 并无明显反流现象。

3 讨论

贲门失弛缓症(AC)又被称为贲门痉挛、巨食管, 是由于EGJ神经肌肉功能障碍所致的功能性疾病, 病因认为是食管肌层内Auerbach神经节细胞变性、减少或缺乏以及副交感神经分布缺陷有关, 主要特征是食管缺乏蠕动, 食管下端括约肌(lower esophageal sphincter, LES)高压以及对吞咽动作的松弛反应减弱等^[3]。AC在我国尚缺乏流行病学资料, 在欧美等西方国家的发病率每年约为1/10万人, 男女患病比例相似。该病的疗法主要包括药物(钙通道阻滞剂、硝酸盐类制剂和抗胆碱能类药物、肉毒杆菌注射)、手术(Heller手术、胸腔镜及腹腔镜手术)和内镜(支架、气囊扩张、POEM)的治疗, 旨在降低LES压力, 使食管下段松弛, 从而解除功能性梗阻^[4-6]。2007年Pasricha等在猪体内成功实施了POEM手术^[7], 2009年Perretta等首先进行了人体POEM手术的研究并取得成功^[8]。2010 Inoue等将POEM应用于临床^[9], 其以创伤小、恢复快、费用低被更多的内镜医师所推崇, 但普及却相对困难, 其原因主要是: 手术操作难度高不易掌握^[10]。

3.1 手术经验及近期并发症处理 (1) “隧道”建立的成功取决于黏膜的完整性。其要点主要是反复黏膜下注射, 让黏膜抬举良好, “隧道”建立可在黏膜下顺利进行, EGJ常因肌层增厚致狭窄使隧道建立十分困难, 术中注意hook刀的方向, 此处常可致黏膜损伤。建议应用IT刀建立“隧道”; (2)术中出血常常是导致手术时间延长的主要原因。术中一定要保证术野清晰, 仔细观察小血管电凝止血, 最大限度减少出血才能使手术加快。我们常用高频电刀强力电凝模式, 功率为50 W。如出血较多可以用透明帽压迫止血, 但手法要求精准、轻柔, 注意透明帽很容易戳穿纵形肌及外膜。EGJ处血管网丰富, 据统计其中有94.67%来自胃左动脉, 56%来自左膈动脉。同时隧道内发现血管网丰富也证明已到达EGJ区。狭窄EGJ通过后空间明显扩大, 标志进入胃底。另一种方法就是胃镜下观察胃底黏膜颜色改变, 注射靛胭脂盐水后, 胃黏膜颜色改变显著。手术中常以此作为解剖标志指导“隧道”深度; (3)近期并发症有气胸、气腹、皮下及纵膈气肿。其发生的主要原因是穿孔造成, 与术中建立隧道的位置及EGJ肌层切开深度与长度均有关。有报道皮下气肿的发生率为63.9%, 气胸的发生率为19.3%^[11]。从食管解剖看, 食管管壁较薄, 成人厚约3-4 mm, 由4层组织组成, 分为黏膜层、黏膜下层、肌层及纤维层, 肌层的内层系环行肌肉纤维, 外层为纵行肌肉纤维, 有一定扩张和伸缩性, 肌层之外裹有薄层结缔组织, 形成食管的外膜, 但外层缺乏坚韧的浆膜层。所以在EGJ部行全层肌切开时注意深度, 此区以上

全层肌切开穿孔几率会增大; EGJ解剖结构: 食管腹段前面和肝左叶后面邻接, 前有左迷走神经干走行。后面虽没有腹膜覆盖, 但被左膈脚及腹主动脉将食管腹段分离出的一层疏松结缔组织包裹, 右侧有肝尾状叶, 左侧有胃底部, 只有前面及左侧面被腹膜(浆膜)覆盖, 左心室在前右方, 食管入食道裂孔移行为食管胃结合部(EGJ)。所以术中隧道建立点应选择食管右后壁7点钟方向, 位置固定, 穿孔发生纵膈气肿和气胸几率相对少。有人选择EGJ前壁隧道开口报道, 认为前壁有完整的浆膜解剖层次清楚, 发生穿孔机会小, 不破坏贲门切迹, 有效防止反流。本组患者6例行食管内超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)检查示食管下段肌层均有不同程度的增厚。所以周教授提出“EGJ上下5 cm范围的全层肌切开^[12]”的观点是安全的。术前必须充分了解EGJ增厚的程度及长度, 以确保手术的安全性, 亦可加做术中内镜超声检查(EUS)明确切开足够的长度保证术后达到充分的缓解^[13]。本组有2例行全层肌切开, 未发生穿孔及气胸及气腹, 文献报道, 全层肌切开没有增加穿孔的几率^[11]。术中应用CO₂冲气, 并严密观察全层肌切开时有无外膜破损。CO₂在体内弥散快, 发生轻度皮下气肿一般1 wk内自行吸收。本组患者有1例出现颈部及前胸皮下气肿, 间断吸氧治疗后好转。发生气胸时要求手术加快, 检查外膜是否破损, “隧道”内应用血管夹夹毕外膜较困难, 要求“隧道”入口闭合严密。轻度气胸不会引起血氧下降及肺萎陷, 患者亦无明显气短及紫绀症状, 无需特殊处理, 气胸可自行消失, 严重气胸需行胸腔闭式引流术及吸氧治疗。

3.2 远期并发症及处理 远期并发症主要为症状复发。从生理学角度看, EGJ为控制食物流入胃腔的通道, 也是连接胸腹腔的门户, 在食管与胃连接处1-2 cm轻度增厚的环形肌被称为食管下括约肌(LES)。胃及食管内的压力差调节LES的舒张, 防止食物反流入食管, 此外, 胃底与食管之间有一锐性夹角, 被称之为贲门切迹(esophagogastric angle of His, His角)。研究证实, His角也具有防止胃内容物反流的作用。与膈肌脚和膈食管韧带共同形成一道抗反流的屏障, 该区在手术切除或遭受肿瘤破坏时, 易出现食物反流症状。本组患者, LES均被切断, 但随诊发现术后反流现象少见。Inoue报告: 17例AC患者行POEM术后反流为1例^[9], 考虑与保护His角有关。本组病例1例出现POEM术后胃动力下降, 外科近端

胃癌根治手术后常因双侧迷走神经切断出现胃瘫或胃动力下降症状^[14], 本例手术未伤及迷走神经, 至于是否因为胃食管结合部环形肌及纵形肌完全被切开所致, 目前暂无相关机制解释。另1例患者与术后2 mo后出现呕吐, 复查胃镜提示贲门再次狭窄。考虑术中肌层切开长度不够, 以及瘢痕挛缩所致。Costantini对71例接受腹腔镜Heller术治疗的贲门失弛缓患者进行了6年的随访观察, 13例患者术后复发, 其中50%患者在1年内复发, 复发的主要原因是肌切开特别是胃端肌层切开不完全^[15,16]。所以完全、有效、足够长度的肌切开是保证POEM疗效的关键。同时一味追求肌切开的长度增加疗效势必会增加穿孔的机会。所以到目前为止对POEM的最佳肌切开长度仍有争议。

本组病例数较少, 随访时间相对较短。目前我国复旦大学附属中山医院已成功完成500余例POEM手术, 已成为全世界完成此手术最多的国家, 鉴于中山大学经验认为POEM治疗贲门失弛缓症短期疗效肯定, 其远期疗效及并发症情况仍需长期随访及大样本病例证实。

4 参考文献

- 1 周平红, 姚礼庆, 蔡明琰, 钟芸诗, 任重, 徐美东, 陈巍峰, 秦文政, 胡健卫, 李亮, 刘靖正, 王萍, 秦新裕. 经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的初探. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 63-66
- 2 Eckardt AJ, Eckardt VF. Treatment and surveillance strategies in achalasia: an update. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 311-319 [PMID: 21522116 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.68]
- 3 Francis DL, Katzka DA. Achalasia: update on the disease and its treatment. *Gastroenterology* 2010; 139: 369-374 [PMID: 20600038 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.024]
- 4 王爽, 刘冰榕. 贲门失弛缓症的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 75-81
- 5 李柯蓓, 施瑞华. 贲门失弛缓症的治疗进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2333-2337
- 6 李惠凯, 令狐恩强. 经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的新进展. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2012; 5: 399-401
- 7 Pasricha PJ, Hawari R, Ahmed I, Chen J, Cotton PB, Hawes RH, Kalloo AN, Kantsevoy SV, Gostout CJ. Submucosal endoscopic esophageal myotomy: a novel experimental approach for the treatment of achalasia. *Endoscopy* 2007; 39: 761-764 [PMID: 17703382]
- 8 Perretta S, Dallemagne B, Allemann P, Marescaux J. Multimedia manuscript. Heller myotomy and intraluminal fundoplication: a NOTES technique. *Surg Endosc* 2010; 24: 2903 [PMID: 20428893 DOI: 10.1007/s00464-010-1073-3]
- 9 Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010; 42: 265-271 [PMID: 20428893 DOI: 10.1007/s00464-010-1073-3]

■创新盘点

本文重点讨论了POEM治疗的手术过程及手术中的相关注意事项, 详细讨论术后近期和远期并发症的处理。

■同行评价

本文较详细的介绍了贲门失弛缓症的POEM治疗过程, 引用文献较新, 对临床工作有一定参考价值。

- 20354937 DOI: 10.1055/s-0029-1244080]
- 10 Eleftheriadis N, Inoue H, Ikeda H, Onimaru M, Yoshida A, Hosoya T, Maselli R, Kudo SE. Training in peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Ther Clin Risk Manag* 2012; 8: 329-342 [PMID: 22888256 DOI: 10.2147/TCRM.S32666]
- 11 任重, 钟芸诗, 周平红, 徐美东, 蔡明琰, 李亮, 时强, 姚礼庆. 经口内镜肌切开术治疗贲门失弛缓症并发症及其防治探讨. *中华消化内镜杂志* 2011; 11: 615-618
- 12 周平红, 李全林, 姚礼庆. 开展经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的要点. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 601-603
- 13 钟芸诗, 李亮, 周平红, 马丽黎, 时强, 徐美东, 任重朱, 博群, 刘靖正, 姚礼庆. 超声内镜在经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症中的应用价值. *中华消化杂志* 2012; 11: 727-730
- 14 Gutschow CA, Hölscher AH. Myotomy for esophageal achalasia - laparoscopic versus peroral endoscopic approach. *Endoscopy* 2010; 42: 318-319 [PMID: 20354941 DOI: 10.1055/s-0029-1244071]
- 15 Costantini M, Zaninotto G, Guirrolle E, Rizzetto C, Portale G, Ruol A, Nicoletti L, Ancona E. The laparoscopic Heller-Dor operation remains an effective treatment for esophageal achalasia at a minimum 6-year follow-up. *Surg Endosc* 2005; 19: 345-351 [PMID: 15645326 DOI: 10.1007/s00464-004-8941-7]
- 16 卜保国, 令狐恩强, 李惠凯, 王向东, 孟江云, 杜红, 王红斌. 经口内镜下肌切开术环形肌断端距离与贲门失弛缓症状缓解程度的关系. *中华腔镜外科杂志(电子版)* 2012; 5: 386-388

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用

盛博, 陈炜, 赵磊

盛博, 陈炜, 赵磊, 首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科 北京市 100038

盛博, 主治医师, 主要从事危重症的抢救与治疗工作。

作者贡献分布: 病例的选择、临床资料的整理及文章的撰写由盛博完成; 数据的分析由赵磊完成; 研究设计、文章的修改及审阅由陈炜完成。

通讯作者: 盛博, 主治医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医院路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科。

shengbo_bj@163.com

收稿日期: 2013-06-07 修回日期: 2013-07-09

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinoma with cirrhosis

Bo Sheng, Wei Chen, Lei Zhao

Bo Sheng, Wei Chen, Lei Zhao, Department of Critical Care Medicine, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Correspondence to: Bo Sheng, Attending Physician, Department of Critical Care Medicine, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China. shengbo_bj@163.com

Received: 2013-06-07 Revised: 2013-07-09

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical effect of perioperative enteral nutrition in improving perioperative liver function and postoperative complications in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

METHODS: Sixty-four liver cancer patients with cirrhosis were randomly divided into either a study group or a control group. The control group received conventional treatment, and the study received additional enteral nutrition therapy on the basis of conventional treatment. The liver function, immune status and nutritional status were compared between the two groups to evaluate the clinical efficacy of enteral nutrition therapy.

RESULTS: The liver function indices on preop-

erative day 1 and postoperative days 1, 3 and 7 were significantly better in the study group than in the control group (ALT: $51.17 \mu\text{mol/L} \pm 8.47 \mu\text{mol/L}$ vs $61.43 \mu\text{mol/L} \pm 22.43 \mu\text{mol/L}$, $104.42 \mu\text{mol/L} \pm 48.25 \mu\text{mol/L}$ vs $167.43 \mu\text{mol/L} \pm 78.35 \mu\text{mol/L}$, $74.36 \mu\text{mol/L} \pm 17.64 \mu\text{mol/L}$ vs $84.57 \mu\text{mol/L} \pm 44.24 \mu\text{mol/L}$, $63.93 \mu\text{mol/L} \pm 7.32 \mu\text{mol/L}$ vs $79.28 \mu\text{mol/L} \pm 11.73 \mu\text{mol/L}$; AST: $31.36 \mu\text{mol/L} \pm 18.37 \mu\text{mol/L}$ vs $47.48 \mu\text{mol/L} \pm 11.57 \mu\text{mol/L}$, $103.12 \mu\text{mol/L} \pm 21.61 \mu\text{mol/L}$ vs $170.21 \mu\text{mol/L} \pm 42.56 \mu\text{mol/L}$, $84.26 \mu\text{mol/L} \pm 11.53 \mu\text{mol/L}$ vs $127.25 \mu\text{mol/L} \pm 31.14 \mu\text{mol/L}$, $51.43 \mu\text{mol/L} \pm 11.32 \mu\text{mol/L}$ vs $92.41 \mu\text{mol/L} \pm 18.18 \mu\text{mol/L}$, all $P < 0.05$). The immune indices and nutritional status indices on preoperative day 1 and postoperative days 1, 7 and 10 day were also significantly better in the study group than in the control group (all $P < 0.05$). The incidence of complications in the study group was significantly lower than that in the control group, and no nutrition-related serious adverse reactions were observed.

CONCLUSION: Perioperative enteral nutrition can improve liver function and immunity and reduce the incidence of complications in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Hepatectomy; Enteral nutrition; Function of liver

Sheng B, Chen W, Zhao L. Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinoma with cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 2999-3003 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2999.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2999>

摘要

目的: 探讨肠内营养的对肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期肝脏功能及术后并发症的影响。

方法: 以64例肝癌患者为研究对象, 随机分为

■背景资料

原发性肝癌患者大都伴有肝炎肝硬化, 所以在行肝癌切除术后常出现肝功能损害及增加术后并发症发生率, 严重会导致肝切除术后肝功能的障碍。因此, 如何在围手术期有效地保护肝脏功能, 提高肝脏功能储备, 增强患者对于手术耐受性, 并防止术后并发症的发生, 是需要解决的关键问题。

■同行评议者

郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室; 鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院

■ 研究前沿

围手术期应用肠内营养混悬液,可明显减少肝癌术后并发症的发生。可以将肠腔内残余大便排空,术后防止大便囤积导致氨吸收导致血氨升高,引起肝性脑病,仇毓东及Dhaliwal等也明确指出围手术期口服营养液降低血氨也是纠正肝性脑病的治疗手段之一。

治疗组和对照组。对照组给予常规治疗,治疗组增加围手术期肠内营养治疗。随后对术后两组患者的肝功指标、免疫状况、营养指标等进行对比分析,评价肠内营养治疗的临床疗效。

结果: 治疗组患者术前1 d、术后1、3、7 d的肝功指标均优于对照组,且差异具有统计学意义(ALT: $51.17 \mu\text{mol/L} \pm 8.47 \mu\text{mol/L}$ vs $61.43 \mu\text{mol/L} \pm 22.43 \mu\text{mol/L}$, $104.42 \mu\text{mol/L} \pm 48.25 \mu\text{mol/L}$ vs $167.43 \mu\text{mol/L} \pm 78.35 \mu\text{mol/L}$, $74.36 \mu\text{mol/L} \pm 17.64 \mu\text{mol/L}$ vs $84.57 \mu\text{mol/L} \pm 44.24 \mu\text{mol/L}$, $63.93 \mu\text{mol/L} \pm 7.32 \mu\text{mol/L}$ vs $79.28 \mu\text{mol/L} \pm 11.73 \mu\text{mol/L}$; AST: $31.36 \mu\text{mol/L} \pm 18.37 \mu\text{mol/L}$ vs $47.48 \mu\text{mol/L} \pm 11.57 \mu\text{mol/L}$, $103.12 \mu\text{mol/L} \pm 21.61 \mu\text{mol/L}$ vs $170.21 \mu\text{mol/L} \pm 42.56 \mu\text{mol/L}$, $84.26 \mu\text{mol/L} \pm 11.53 \mu\text{mol/L}$ vs $127.25 \mu\text{mol/L} \pm 31.14 \mu\text{mol/L}$, $51.43 \mu\text{mol/L} \pm 11.32 \mu\text{mol/L}$ vs $92.41 \mu\text{mol/L} \pm 18.18 \mu\text{mol/L}$, 均 $P < 0.05$)。治疗组术前1 d、术后7、10 d的免疫力指标和肝脏储备功能指标均优于对照组,且差异具有统计学意义。治疗组患者的并发症发生率明显低于对照组,且未见与营养制剂相关的严重不良反应。

结论: 早期肠内营养对行手术治疗的伴有肝炎肝硬化肝癌患者具有提高肝脏功能储备、提高免疫力等作用,可促进术后肝脏功能恢复及减少术后并发症发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 肝切除术; 肠内营养; 肝功能

核心提示: 早期肠内营养对行手术治疗的肝癌合并肝炎后肝硬化患者具有提高肝脏功能储备作用,促进术后肝脏功能恢复及减少术后并发症发生。

盛博, 陈炜, 赵磊. 肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2999-3003
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2999.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2999>

0 引言

临床研究证实原发性肝癌患者中约90%以上患者伴有肝硬化,对其行肝癌切除术后由于自身肝功能低下,肝功能损伤和相关术后并发症发生率偏高,临床多表现^[1,2]为肝细胞损伤、肝功能指标显著异常,对于患者术后肝功能的恢复和预后较为不利。此外,研究发现40%-80%的癌症患者伴有营养不良状况^[3],严重影响手术治

疗、放疗和化疗的临床治疗效果,其原因主要是由于患者对上述手段的耐受性较差、自身营养状况持续下降。因此对于肝癌患者而言,如何在围手术期有效地保护肝脏功能提高肝脏功能储备、改善患者自身的营养状况、增强患者对于手术耐受性等是提高患者术后存活率和降低并发症的关键环节。在本次研究中,以64例肝癌患者为研究对象,在围手术期给予了肠内营养治疗,临床效果较为满意,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2012-12在我院肝胆外科因原发性肝癌行肝癌切除术联合脾脏切除术贲门周围血管离断术的手术治疗患者64例,肝癌肿瘤直径: 2-11 cm, 平均直径 $6.25 \text{ cm} \pm 0.96 \text{ cm}$; 肿瘤位于肝右后叶23例,肝右前叶18例,左外叶12例,左内叶9例,尾状叶2例; 术前肝功能评估为Child-Pugh A级30例, B级34例; 术前无心、肺、肾功能不全及其他全身性疾病。采用随机数字法将患者分为2组,治疗组34例,其中男20例,女14例,平均年龄 $51.53 \text{ 岁} \pm 8.67 \text{ 岁}$; 对照组30例,其中男19例,女11例,平均年龄 $52.46 \text{ 岁} \pm 9.31 \text{ 岁}$ 。两组患者的一般资料对比结果显示,两组患者在年龄、性别、体质量、肝功能等方面比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: (1)开展本项研究前,经医院道德伦理委员会批准,且所有入选患者均签订知情同意书; (2)术后胃肠功能良好,可经口进食的患者; (3)既往无康全甘或其他类似营养制剂过敏、不耐受史; (4)无严重胃溃疡、胃肠肿瘤或严重的肠道疾病; (5)无自身免疫性疾病或先天性免疫力低下; (6)凡不符合上述筛选条件之一者或拒绝配合研究者,不予入组接受研究。

1.2.2 治疗: 对照组给予维生素K1、血浆或者人血白蛋白等常规护肝治疗。治疗组在对照组的基础上,术前3 d开始口服肠内营养混悬液500 mL(商品名: 康全甘, TP-MCT), 1瓶/d。术中常规予以放置空肠营养管,术后第1天即予以500 mL生理盐水经加温输液泵持续滴入营养管,持续12 h。如患者无不适症状,术后第2天连续肠内营养混悬液每日泵入1000 mL,持续4 d至肠道功能恢复。

1.2.3 观察指标与疗效评价方法: (1)于术前1 d和术后1、3、7 d晨起空腹测定对照组和治疗组患者的外周静脉血血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate ami-

表 1 肝癌患者术前术后肝功能比较

分组	丙氨酸转氨酶 ($\mu\text{mol/L}$)	谷草转氨酶 ($\mu\text{mol/L}$)	血清总胆红素 (mmol/L)	直接胆红素 (mmol/L)	血氨 (mmol/L)
对照组					
术前1 d	61.43 \pm 22.43	47.48 \pm 11.57	14.61 \pm 3.15	12.50 \pm 2.59	15.25 \pm 19.63
术后1 d	167.43 \pm 78.35	170.21 \pm 42.56	83.61 \pm 14.82	65.49 \pm 18.66	66.38 \pm 22.47
术后3 d	84.57 \pm 44.24	127.25 \pm 31.14	67.23 \pm 18.19	56.87 \pm 15.28	42.24 \pm 15.81
术后7 d	79.28 \pm 11.73	92.41 \pm 18.18	12.22 \pm 12.27	23.45 \pm 9.29	32.28 \pm 11.27
治疗组					
术前1 d	51.17 \pm 8.47 ^a	31.36 \pm 18.37 ^c	12.32 \pm 1.69	11.62 \pm 3.83	12.92 \pm 11.56 ^a
术后1 d	104.42 \pm 48.25 ^a	103.12 \pm 21.61 ^c	85.26 \pm 17.82	64.37 \pm 15.25	54.44 \pm 21.09 ^a
术后3 d	74.36 \pm 17.64 ^a	84.26 \pm 11.53	65.18 \pm 12.47	47.57 \pm 12.85	29.18 \pm 10.26 ^a
术后7 d	63.93 \pm 7.32 ^a	51.43 \pm 11.32 ^c	14.75 \pm 8.74	21.18 \pm 8.44	16.44 \pm 8.59 ^a

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 对照组相应时间点.

表 2 对照组与治疗组患者免疫功能对比

时间	分组	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	CD4(%)	CD8(%)
术前1d	治疗组	14.36 \pm 4.17	2.16 \pm 1.12	3.67 \pm 1.43	39.87 \pm 3.81	26.45 \pm 2.37
	对照组	13.87 \pm 5.03	2.31 \pm 1.24	3.61 \pm 1.59	40.94 \pm 5.62	25.68 \pm 3.07
术后7d	治疗组	13.28 \pm 3.24 ^d	2.13 \pm 2.04	3.68 \pm 1.74 ^d	38.19 \pm 4.15 ^c	23.34 \pm 4.13
	对照组	10.76 \pm 4.81 ^b	1.96 \pm 3.16	2.81 \pm 3.23 ^b	30.28 \pm 5.14 ^b	27.51 \pm 3.62
术后10d	治疗组	18.74 \pm 5.18 ^d	2.28 \pm 3.15	4.26 \pm 2.38 ^d	43.26 \pm 6.32 ^d	20.09 \pm 4.73 ^d
	对照组	10.23 \pm 3.65 ^a	2.34 \pm 2.71	2.89 \pm 2.11 ^a	34.49 \pm 5.36 ^b	31.21 \pm 6.17

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 术前; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 对照组.

notransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、血氨含量等肝功能指标; (2)于术前、术后7 d、术后10 d测定两组患者的血清白蛋白、转铁蛋白、氮平衡等肝脏储备功能和营养状况相关的指标; (3)于术前、术后7 d和术后10 d测定患者免疫功能相关的IgG、IgM、CD4、CD8等指标; (4)统计肠内营养支持治疗过程中的患者出现的不良反应事件.

统计学处理 数据采集后, 采用SPSS19.0进行统计分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 组间对比采用 t 检验, 计数资料进行 χ^2 检查, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 对照组与治疗组术后肝功能指标对比 2组各项指标术后与术前相比, 均有一定程度的升高, 治疗组术前1 d及术后1、3、7 d的血清ALT、AST值明显低于相应对照组, 有统计学差异($P < 0.05$); 2组术前1d及术后1、3、7 d血氨

比较, 治疗组明显低于对照组($P < 0.05$); 2组术后血清TBIL、DBIL比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1).

2.2 对照组和治疗组患者的免疫功能指标对比 治疗组和对照组患者的免疫功能对比结果显示, 治疗组患者的IgG、IgA、IgM在术后7 d有所下降, 但并不显著($P > 0.05$), 10 d时除CD8以外其他指标较7 d时有所回升. 对照组患者术后7 d时各项免疫指标均有明显下降, 且具有统计学差异($P < 0.05$), 10 d时较术前下降更加明显. 对照组和治疗组相比, 术前、术后7和10 d时的免疫指标均有统计学差异, 患者的免疫状况以治疗组较为理想(表2).

2.3 治疗组和对照组患者营养状况对比 由表3可知, 治疗组患者的蛋白水平于术后7 d时即回复至术前水平附近, 且在术后10 d时较术前有所升高. 相对于治疗组而言, 对照组患者的蛋白水平在术后7 d时依然低于术前水平, 截止到时候10 d仍未完全回复至术前水平. 治疗组和对照组相比, 术前、术后7 d和术后10 d的蛋白水平均以治

■创新盘点

围手术期肝癌患者使用肠内营养液(康全甘)复方制剂进行肠内营养, 其对于患者术后恢复的观察.

■应用要点

围手术期早期应用肠内营养混悬液可增强患者术前肝脏储备能力,降低肝癌术后血清转氨酶,对恢复术后肝脏功能、减少并发症的发生具有积极的意义,适合对伴有肝炎肝硬化的肝癌患者在围手术期使用。

表 3 治疗组和对照组营养状况对比

时间	分组	白蛋白(g/L)	纤维连接蛋白(g/L)	转铁蛋白(g/L)	前清蛋白(g/L)	氮平衡
术前1d	治疗组	36.4±3.7	2.51±0.63	2.31±0.54	0.21±0.06	-7.3±2.2
	对照组	37.5±4.4	2.45±0.71	2.26±0.68	0.23±0.05	-7.9±2.4
术后7d	治疗组	36.1±3.4	2.47±0.79 ^c	2.27±0.43 ^c	0.19±0.08 ^d	1.2±0.7 ^{bd}
	对照组	34.1±4.5	1.91±0.53 ^a	1.71±0.62 ^a	0.15±0.04 ^b	-4.3±1.6
术后10d	治疗组	37.2±4.1	2.74±0.47 ^c	2.39±0.52 ^c	0.26±0.07 ^d	3.8±1.6 ^{bd}
	对照组	35.6±3.6	2.33±0.65	2.13±0.58	0.19±0.07	-1.3±1.1 ^b

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 术前; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 对照组。

疗组较为理想,即表明治疗组患者的营养状况较好,且两组间差异具有统计学意义(*P*<0.05)。

2.4 不良反应与并发症发生率 对照组与治疗组术后并发症发生率分别为50%(15/30)和29.4%(10/34),两组相比具有统计学差异(*P*<0.05)。并发症主要有:脾窝及胸腔积液、胆漏、肝脏功能衰竭、肺部感染、胰漏、术后再出血二次手术、门静脉或脾静脉血栓、肝性脑病、切口液化或感染。其中对照组发生2例肝性脑病,治疗组则未出现。在不良反应方面,接受肠内营养治疗的34例患者均未出现与营养制剂相关的过敏反应、严重电解质紊乱等不良反应。有3例患者出现轻微不耐受症状,主要表现为腹胀、腹泻且程度较轻。所有患者均顺利完成肠内营养支持治疗,总耐受率为96.77%,表明肠内营养支持治疗安全、有效。

3 讨论

恶性肿瘤,作为慢性消耗性疾病,几乎所有患者均伴有不同程度的营养不良^[4]。长期的病痛除使患者机体营养状况变差以外,患者的自身免疫力也呈逐渐下降趋势。因肿瘤患者的机体素质较差,术后出现伤口感染、愈合缓慢的几率较症状患者显著增高^[5],且对术后的化疗、放疗等的临床效果均有较大影响。为加速患者的康复、缩短住院时间以及降低医疗费用,术后尽早给予合理有效的营养支持显得愈加重要,肠内营养在肿瘤疾病中的临床效果也逐步得到了广大医师的肯定。

消化科肿瘤相对于其他肿瘤性疾病,除可对患者的营养状况造成直接影响以外,外科手术术后常需禁食一段时间,给予营养支持治疗是保证患者康复、提高手术成功率的关键^[6]。本研究中的肝癌患者除接受肝癌切除术以外,还接受了贲门周围血管离断术,可严重影响患者食管

及胃底收缩活动,对术后患者的进食和营养吸收有较大影响。临床研究显示^[7],约80%的消化系统肿瘤患者术后会出现进食后腹胀、吞咽有哽咽感等症状,为解决患者早期饮食不耐受、加速患者的康复,对其行肠内营养支持治疗比较可行。故在本次研究中共计对治疗组中34例患者进行了肠内营养治疗,临床效果显示治疗组患者的肝功能指标、营养状况以及免疫情况均优于对照组,并且两组间的差异具有统计学差异(*P*<0.05)。目前在营养支持途径方面,分为肠内、肠外营养两种^[8]。肠外营养因不收制剂口感以及胃肠道功能和结构的限制,具有吸收快、疗效好的优点而一直被广泛应用于临床。但由于肠外营养不经胃肠道吸收,仅适用于短期的营养支持,长期使用可导致胃肠道出现应激性溃疡、胃粘膜萎缩或出现严重的代谢并发症^[9]。为弥补肠外营养的不足,近些年来肠内营养的逐渐被广泛推广至临床。

目前肠内营养制剂主要有康全力、康全甘、百普力、百普素等^[10],并且根据应用成分的不同均有一定的适用人群。因本次研究中的患者均为肝癌患者,为降低患者肝脏和胃肠道负担,选取了短肽类康全甘作为营养制剂。康全甘主要成份为水、麦芽糊精、乳清蛋白水解物、植物油、维生素、矿物质和微量元素等人体必需的营养要素,每瓶500 mL可以提供约500千卡热量。因康全甘为短肽制剂^[11],口感稍差,临床多见饮用后腹胀或恶心,但较其他营养制剂更易吸收。对34例患者行营养支持治疗后,其肝功能指标ALT、AST、TBIL、血氨以及免疫指标IgA、IgM等均较对照组和术前有明显改善,提示我们肠内营养可改善肝癌患者术后的肝脏功能和免疫功能,对肝脏功能的恢复具有促进作用。在营养状况方面,治疗组患者的蛋白水平和回复至正常水平的速度均优于对照组,为患者

的康复和预后治疗提供了较好的营养基础. 对并发症和不良反应进行的统计结果显示, 治疗组的并发症发生率明显低于对照组, 且未发现与营养制剂明显相关的并发症. 其原因主要是由于营养治疗提高了患者自身的应激能力和免疫状况、降低了血氨、ALT、AST等肝功能损伤和肝脑病的危险因素^[12-14].

总之, 围手术期早期应用肠内营养混悬液可增强患者术前肝脏储备能力, 改善肝癌术后的异常肝功指标、提高患者免疫力, 对恢复术后肝脏功能、减少并发症的发生具有积极的意义, 适合对伴有肝炎肝硬化的肝癌患者在围手术期使用.

4 参考文献

- 1 Roskams T, Kojiro M. Pathology of early hepatocellular carcinoma: conventional and molecular diagnosis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 17-25 [PMID: 20175030 DOI: 10.1055/s-0030-1247129]
- 2 Hidaka H, Kokubu S, Nakazawa T, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Shibuya A, Saigenji K. Therapeutic benefits of partial splenic embolization for thrombocytopenia in hepatocellular carcinoma patients treated with radiofrequency ablation. *Hepatol Res* 2009; 39: 772-778 [PMID: 19473438 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00508.x]
- 3 Aiyama T, Kamiyama T, Nakanishi K, Yokoo H, Taniguchi M, Fukumori D, Tahara M, Kakisaka T, Kamachi H, Matsushita M, Todo S. [A study of cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma and huge splenomegaly who received treatment for hepatocellular carcinoma with concomitant splenectomy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2010; 37: 2683-2686 [PMID: 21224679]
- 4 胡亮, 易永祥. 肝癌切除同时行脾脏切除加断流术的术后并发症的相关因素分析. *山东大学学报* 2013; 51: 64-66
- 5 顾春林, 霍中华, 张洪海, 胡君, 尹鹏, 宋博, 侯乐伟, 吕盛. 低热量营养支持对肝癌术后营养和免疫功能的影响. *肠外与肠内营养* 2006; 13: 152-152
- 6 江志伟, 李宁, 黎介寿. 快速康复外科的概念及临床意义. *中国实用外科杂志* 2009; 27: 131-133
- 7 Wang C, Li C, Wen TF, Yan LN, Li B, Liang GL, Li KW. Safety of synchronous hepatectomy and splenectomy for patients with hepatocellular carcinoma and hypersplenism. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 526-528 [PMID: 22353518]
- 8 仇毓东, 朱新华, 徐庆祥, 吴亚夫, 周建新, 丁义涛. 精准肝切除术治疗原发性肝癌的疗效评价. *中华消化外科杂志* 2010; 9: 1-3
- 9 Liang P, Gao Y, Zhang H, Yu X, Wang Y, Duan Y, Shi W. Microwave ablation in the spleen for treatment of secondary hypersplenism: a preliminary study. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 692-696 [PMID: 21343515 DOI: 10.2214/AJR.10.4193]

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 结论可信, 对临床医师有很好的参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道

■背景资料

临床资料显示, 约10%-20%胆囊结石患者合并胆管结石。目前处理胆管结石途径较多, 可腹腔镜胆囊切除术前后结合EST取石、腹腔镜胆道探查或开腹胆道探查术。但EST取石费用较高, 而无论开腹还是腹腔镜胆道探查, 放置T管均可能导致相关并发症发生。我们在LTCBDE中应用液电碎石来治疗胆管结石合并较大胆管结石, 取得了较好的效果。

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区 云南省昆明市 650101

魏晓平, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 本文由魏晓平设计; 治疗过程由魏晓平与田大广主要操作, 于恒海与王秋虹辅助操作完成; 病例收集、数据分析由于恒海与王秋虹完成; 本论文写作由魏晓平完成; 胡明道指导修改。

通讯作者: 胡明道, 主任医师, 650101, 昆明市滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区. humdao@163.com
电话: 0871-65351281-2680

收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-08-23

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration

Xiao-Ping Wei, Da-Guang Tian, Heng-Hai Yu, Qiu-Hong Wang, Ming-Dao Hu

Xiao-Ping Wei, Da-Guang Tian, Heng-Hai Yu, Qiu-Hong Wang, Ming-Dao Hu, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ming-Dao Hu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunming 650101, Yunnan Province, China. humdao@163.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-08-23

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the application value of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration (LTCBDE).

METHODS: Twenty-four patients who were diagnosed with gallbladder stones with common bile duct stones by magnetic resonance cholangiopancreatography underwent LTCBDE. The minimal diameter of stones was 1.6 cm. The hospital stay, operative time and postoperative complications were recorded.

RESULTS: LTCBDE was successful in all the cases. The operative time and hospital stay were 75-210 min and 3-7 d, respectively. One of the patients had residual stones (4.2%) and recovered without treatment.

CONCLUSION: Electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in LTCBDE is an effective and safe way to treat greater stones.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Electrohydraulic lithotripsy; Choledochoscopy; Laparoscopic transcystic common bile duct exploration

Wei XP, Tian DG, Yu HH, Wang QH, Hu MD. Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3004-3007 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3004.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3004>

摘要

目的: 探讨液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)中的应用技巧及效果。

方法: 回顾分析24例LTCBDE患者临床资料, 术前均经磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)确诊胆囊结石合并胆管结石, 胆管结石直径 ≥ 1.6 cm, 记录手术时间, 住院时间及术后并发症发生率。

结果: 手术均获成功, 无1例中转开腹。手术时间75-210 min, 住院时间3-7 d, 1例(4.2%)发生胆管残余结石, 自行排出。

结论: 液电碎石联合胆道镜应用于LTCBDE可在具备适应症情况下安全有效处理较大胆管结石, 是治疗胆管结石较好方法之一。

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 液电碎石; 胆道镜; 经胆囊管腹腔镜胆道探查

核心提示: 针对胆囊管内径 ≥ 3 mm, 单纯肝外胆管结石, 无急性胆管炎、胰腺炎等并发症的胆囊结石合并胆管结石患者, 液电碎石联合胆道镜行LTCBDE可安全有效处理较大胆管结石, 是治疗胆管结石较好方法之一.

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道. 液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3004-3007 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3004.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3004>

0 引言

在胆囊结石行择期腹腔镜胆囊切除术患者中, 约10%合并胆管结石, 而急性胆囊炎患者, 合并胆管结石发病率高达10%-20%^[1]. 经胆囊管途径胆总管探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE), 避免了胆总管切开探查可能造成的不良后果, 术后不需放置T管, 保持了胆道的完整性和正常生理功能, 是近年来开展较多的术式. 但一般要求结石径线 ≤ 1 cm^[2], 我院自2010年开始在LTCBDE中应用液电碎石治疗胆囊结石合并较大胆管结石24例, 效果满意, 现报告总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组病例男性11例, 女性13例, 年龄31-68岁, 平均47.5岁, 术前均经过磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)确诊为胆囊结石合并胆总管结石. 结石均位于胆总管, 大小1.6-2.7 cm, 平均1.9 cm. 结石单发17例, 多发7例.

1.2 方法 纤维胆道镜: Olympus XP-20型, 配备取石网篮; 液电碎石仪: 四川康迪医疗设备公司TNS-2003T型体内冲击波胆道液电碎石仪, 液电碎石电极为可弯曲金属导丝式电极.

手术方法: 全身麻醉, 患者取头高足低位, 右侧抬高15-20度. 常规四孔法放置Trocar. 胆囊动脉夹闭后离断, 胆囊管于近胆囊壶腹部金属钛夹夹毕或丝线结扎. 紧贴金属夹下方胆囊管两侧分别缝一牵引线, 从剑突下及肋缘下Trocar引出. 于缝线处沿胆囊管横轴切开胆囊管壁约

1/3-1/2, 再沿胆囊管长轴稍作延长切开, 于剑突下戳孔处置入胆道镜, 行经胆囊管胆总管探查. 经胆道镜治疗孔插入液电碎石电极至结石中央部, 根据结石大小和硬度调节输出功率, 一般约0.6 mA, 若结石质地较硬可改为1.0 mA, 均采用连续激发模式. 用取石网篮取出碎石或推入十二指肠. 取尽结石后, 再次胆道镜检查有无残余石. 根据情况采用直接夹闭或微莽线缝扎关闭胆囊管, 患者均温氏孔置管引流.

2 结果

24例手术均获成功. 手术时间75-210 min, 平均105 min. 住院时间3-7 d, 平均4.7 d. 无胆漏、术后黄疸、切口感染等并发症, 1例(4.2%)发生胆管残余结石, 未经处理后自行排出, 复查无残余结石.

3 讨论

LTCBDE近年来逐渐开展增多, 其具有的优势为: 避免了留置T管的并发症; 保护了Oddis括约肌功能; 降低了住院费用^[3]. 大样本中心研究显示^[4], 76.3%的患者仅需行LTCBDE就可有效治疗胆囊结石合并胆管结石, 国内外临床资料表明该技术取石成功率可分别达96.29%^[5]及85%^[6], 术后长期随访(168 mo)并发症发生率5.1%^[7]. 甚至部分学者认为其应作为治疗胆囊结石合并胆管结石的首选方案^[8].

虽然LTCBDE具有如上诸多优点, 但其应用仍有一定限制. 其中结石直径是限制开展LTCBDE的重要因素之一. 为解决这一问题, 临床工作中引入了碎石设备. 目前碎石辅助设备主要包括液电碎石、双频双脉冲激光(U-100)及钬激光等. 相比较于激光碎石而言, 液电碎石仪释放的为低量高频脉冲放电系统的高能震波, 可在结石表面产生微爆效应, 使结石崩解. 其工作能量一般为0.6-1.0 mA, 远低于U-100的1.2 W^[9], 而钬激光则可能诱发胆管穿孔、胆漏等并发症^[10], 因此液电碎石应用于胆道取石, 安全性较高. 本研究中, 24例结石 >1.6 cm的患者均碎石并取石成功, 无1例出现胆道出血, 胆道穿孔等并发症.

除结石大小这一影响因素外, 合理掌握适应症仍是LTCBDE成功的先决条件. 总结其适应症为: (1)胆囊管内径 ≥ 3 mm. 90%以上的胆囊结石合并胆总管结石为继发性胆管结石^[11], 因此, 胆囊管均有不同程度扩张. Olympus XP-20为超细

■研发前沿

如何提高LTCBDE手术成功率及取石率, 是目前研究热点与研究方向之一. 目前碎石辅助设备主要包括液电碎石、双频双脉冲激光(U-100)及钬激光等. 相比较于激光碎石而言, 液电碎石仪释放的为低量高频脉冲放电系统的高能震波, 可在结石表面产生微爆效应, 使结石崩解. 其工作能量较低, 术后并发症发生率低, 在胆道外科应用较广泛.

■相关报道

郭伟等在丰富手术例数基础上总结了LTCBDE的手术适应症及手术技巧. 王舟翀等检索了12年相关文献, 对LTCBDE适应症、手术技术及并发症进行了总结.

■创新盘点

本研究创新点在于将液电碎石与经胆囊管途径胆总管探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)相结合,从而在一定程度上解决了制约LTCBDE开展的重要因素之一-结石直径。既往有在LTCBDE中应用双频双脉冲激光(U-100)及钬激光的临床报道,但液电碎石相较前者而言,发生胆道出血及胆瘘的几率降低。同时,本文总结了手术要点,取石碎石的注意事项等问题。

■应用要点

液电碎石联合胆道镜行LTCBDE既保持了胆管的完成性,降低了手术并发症,又可较好地处理胆管较大结石,减少残石,从而拓宽了该术式的适应症,是处理胆管结石的较好选择之一。但本研究中要求胆管内径 ≥ 3 mm,在一定程度上又限制该术式开展。

胆道镜(工作外径3.7 mm),一般情况下胆囊管内径 ≥ 3 mm就可顺利进入;(2)单纯肝外胆管结石。肝总管结石可通过术中挤压等方法使其降入胆总管再行处理,而肝内胆管结石治疗较复杂,不易通过胆囊管取石一次治愈,故一般作为该术式的禁忌症,但国外资料显示,肝内胆管结石行LTCBDE取石率仍可达40%^[12];(3)无急性胆管炎、胰腺炎等并发症,否则会增加并发症发生风险^[13]。有研究认为,结石数目也是影响手术成功率因素之一,结石数 >3 个可增加术后复发风险^[14]。

符合适应症的情况下,手术可获得较高的成功率。归纳手术要点为:(1)胆囊游离后,暂不切除,紧贴胆囊壶腹金属夹夹闭,弹簧钳向右上方牵拉胆囊。胆囊可用作牵引,又防止了胆囊内结石及胆汁流出而污染腹腔;(2)金属夹下方胆囊管两侧分别缝一牵引线,从剑突下及肋缘下Trocar引出。于缝线处沿胆囊管横轴切开胆囊管壁约1/3-1/2,再沿纵轴视胆囊管长度向胆管延长切口3-6 mm。这一切口位置的选择既切开了大多数Heist瓣,又避免了切开胆总管。而缝线和胆囊形成的两侧及后上方牵拉,可保持胆囊管切口局部张力,加上胆囊管长轴的切口,可使胆道镜入口形成三角形,利于胆道镜进入。部分学者采用胆囊管汇入部微切开扩大开口^[15],由于该切口一般2-3 mm,可能会未切开胆总管或胆囊管切口与胆总管切口不连续,造成进镜困难;同时,缝合有时会遗漏胆管壁,导致术后胆漏;(3)液电碎石仪通过水的高压脉冲波而作用于结石,故术中应使胆管内充满生理盐水;避免将电极头置于结石与管壁间激发而损伤胆管壁,应尽量将电极压于结石中央,采用“隧道式”挖掘,从中心将结石击破;送水应缓慢,以免水流冲洗而致结石漂移;(4)取石结束,应一边退镜一边观察,以免部分小结石漂浮于镜周而遗漏或残留于螺旋瓣。本组中1例发生残石并自行排出,分析与碎石后结石过小有关;(5)胆管下端通过取石网篮即可,不必强行通过胆道镜,以避免术后Oddis括约肌水肿,胆汁排泄障碍;若术中发现胆管下端狭窄,需及时判断是否中转开腹。

如遇碎石困难,如含钙量较高的混合性结石,可适当加大碎石机功率,调至1 mA,将电极头紧压于结石上方并延长碎石时间,采用连续激发状态直至结石裂开,多可成功碎石。若胆管壁出血,可暂停碎石,将胆道镜置于出血处压迫或等待水流冲洗数2-5 min,一般出血可停止。碎

石完毕,取石时应根据结石类型及大小处理。胆色素结石一般质地疏松,取石时可反复扩开取石网篮,搅碎较大碎块后部分细小残渣可经胆管下端排出;而单纯胆固醇结石质地较脆,取石时网篮不可收缩过紧,以免拉碎结石,再次掉入胆管。结石碎块拉至胆囊管口若出石困难,不可强行拉出而撕裂胆囊管,应将结石返回胆管,再次碎石后取石。部分患者Oddis括约肌开口较大,可顺利通过胆道镜,此时可将较大结石碎块直接推入肠腔,减少取石。

液电碎石联合胆道镜行LTCBDE既保持了胆管的完成性,降低了手术并发症,又可较好地处理胆管较大结石,减少残石,从而拓宽了该术式的适应症,是处理胆管结石的较好选择之一。但本研究中要求胆囊管内径 ≥ 3 mm,在一定程度上又限制了该术式的开展。针对这一问题,术中若胆囊管炎症增厚,可采用球囊扩张^[16],若胆囊管纤细脆弱,则可采用胆囊管汇入部微切开的方法。但本组病例尚缺少相关研究,同时本组病例数较少,仍需进一步扩大样本,就手术适应症及手术技巧等问题深入研究,以更好评估该术式价值。还应看到的是,腔镜下取石、碎石对技术及设备要求较高,需要一定的病例及经验积累,推广仍需学习探讨。

4 参考文献

- Chiarugi M, Galatioto C, Decanini L, Puglisi A, Lippolis P, Bagnato C, Panicucci S, Pelosini M, Iacconi P, Seccia M. Laparoscopic transcystic exploration for single-stage management of common duct stones and acute cholecystitis. *Surg Endosc* 2012; 26: 124-129 [PMID: 21792715 DOI: 10.1007/s00464-011-1837-4]
- Santo MA, Domene CE, Riccioppo D, Barreira L, Takeda FR, Pinotti HW. Common bile duct stones: analysis of the videolaparoscopic surgical treatment. *Arq Gastroenterol* 2012; 49: 41-51 [PMID: 22481685 DOI: 10.1590/S0004-28032012000100008]
- 韩威, 蒋伟, 金岚, 李建设, 张忠涛. 两种微创治疗方案治疗继发性胆管结石的临床对照研究. *中华外科杂志* 2009; 47: 353-355
- Chiappetta-Porras LT, Nápoli ED, Canullán CM, Roff HE, Quesada BM, Hernández NA, Petracchi JE, Oría AS. [Single-stage management of common duct stones by video-assisted laparoscopy. Analysis of 10 years' experience]. *Cir Esp* 2007; 82: 231-234 [PMID: 17942049]
- 王舟翀, 罗浩. 腹腔镜下经胆囊管途径胆总管探查手术1186例文献分析. *中国普通外科杂志* 2012; 21: 941-945
- Strömberg C, Nilsson M, Leijonmarck CE. Stone clearance and risk factors for failure in laparoscopic transcystic exploration of the common bile duct. *Surg Endosc* 2008; 22: 1194-1199 [PMID: 18363068 DOI: 10.1007/s00464-007-9448-9]
- Paganini AM, Guerrieri M, Sarnari J, De Sanctis A,

- D'Ambrosio G, Lezoche G, Perretta S, Lezoche E. Thirteen years' experience with laparoscopic transcystic common bile duct exploration for stones. Effectiveness and long-term results. *Surg Endosc* 2007; 21: 34-40 [PMID: 17111284 DOI: 10.1007/s00464-005-0286-3]
- 8 Hanif F, Ahmed Z, Samie MA, Nassar AH. Laparoscopic transcystic bile duct exploration: the treatment of first choice for common bile duct stones. *Surg Endosc* 2010; 24: 1552-1556 [PMID: 20044767 DOI: 10.1007/s00464-009-0809-4]
- 9 Liu F, Jin ZD, Zou DW, Li ZS. Efficacy and safety of endoscopic biliary lithotripsy using FREDDY laser with a radiopaque mark under fluoroscopic guidance. *Endoscopy* 2011; 43: 918-921 [PMID: 21833900 DOI: 10.1055/s-0030-1256555]
- 10 Sauer BG, Cerefice M, Swartz DC, Gaidhane M, Jain A, Haider S, Kahaleh M. Safety and efficacy of laser lithotripsy for complicated biliary stones using direct choledochoscopy. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 253-256 [PMID: 22903184 DOI: 10.1007/s10620-012-2359-1]
- 11 张志强, 肖占军. 术中经胆囊管胆道镜检查214例体会. *腹部外科* 2011; 24: 313
- 12 Gough V, Stephens N, Ahmed Z, Nassar AH. Intrahepatic choledochoscopy during trans-cystic common bile duct exploration; technique, feasibility and value. *Surg Endosc* 2012; 26: 3190-3194 [PMID: 22580881 DOI: 10.1007/s00464-012-2315-3]
- 13 雷衡阳, 马小明, 郭龙. 胆囊切除术中经胆囊管切开胆总管取石26例. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 706-707
- 14 Bove A, Bongarzone G, Palone G, Di Renzo RM, Calisesi EM, Corradetti L, Di Nicola M, Corbellini L. Why is there recurrence after transcystic laparoscopic bile duct clearance? Risk factor analysis. *Surg Endosc* 2009; 23: 1470-1475 [PMID: 19263129 DOI: 10.1007/s00464-009-0377-7]
- 15 陈剑, 谢东辉, 宋京海, 贺修文, 常志刚, 高戈, 韦军民. 胆囊管汇入部微切开的胆道探查. *山东大学学报(医学版)* 2011; 49: 163-164
- 16 郭伟, 韩威, 金岚, 刘军, 赵晓牧, 李建设, 张忠涛, 王宇. 腹腔镜联合术中经胆囊管胆道镜辅助胆管探查取石术(附546例报告). *外科理论与实践* 2011; 16: 359-361

■同行评价

本文有一定价值, 但经验不多. 虽然临床有胆道镜的碎石处理, 与以往体外碎石有很大区别, 但腹腔镜采用碎石的经验尚需积累, 推广意义待考虑.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例

郝芳, 秦鸣放, 李 宁

■背景资料

胆管远端炎性狭窄的诊断与治疗仍是目前临床上的难题, 尽管有各种诊疗方法的介入治疗, 但其效果仍不理想, 病因的不确定性导致缺乏相应的临床指南, 从而延误病情。

郝芳, 天津医科大学 天津市 300070

秦鸣放, 李宁, 天津市南开医院微创外科中心 天津市 300100
郝芳, 主要从事腹腔镜内镜的研究。

作者贡献分布: 资料收集、总结、数据分析及论文撰写由郝芳完成; 超声内镜操作由秦鸣放与李宁完成; 秦鸣放负责全文理论指导。

通讯作者: 郝芳, 300070, 天津市气象台路22号, 天津医科大学。
xwp0122@126.com
电话: 022-27435268

收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases

Fang Hao, Ming-Fang Qin, Ning Li

Fang Hao, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Ming-Fang Qin, Ning Li, Center for Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Correspondence to: Fang Hao, Tianjin Medical University; Center for Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300070, China. xwp0122@126.com

Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To explore the value of endoscopic ultrasonography (EUS) in the treatment of inflammatory distal biliary stricture.

METHODS: The clinical data for 165 patients with inflammatory distal biliary stricture who underwent EUS from March 2010 to March 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: A total of 256 EUS treatments were performed in 165 patients. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and EUS were selected based on the clinical condition. Endoscopic nasobiliary drainage and/or endoscopic retrograde biliary drainage were separately used. Clinical symptoms were relieved and hepatic function was improved in all patients. Bile duct pressure was reduced. The success rate of ERCP was 98.8%. The rate of complications was 4.84% (8/165). Three pa-

tients developed post-ERCP hyperamylasemia, 3 patients developed mild cholangitis, and 2 patients developed acute pancreatitis. During a follow-up period of 1-37 mo (average, 17.8 mo \pm 5.3 mo), no stricture recurrence was found. Stents were removed in 121 cases, but stent replacement was required in another 29 cases.

CONCLUSION: Endoscopic ultrasonography is a safe, effective and mini-invasive method for inflammatory distal biliary stricture.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Inflammatory distal biliary stricture; Biliary plastic stent

Hao F, Qin MF, Li N. Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3008-3012
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3008.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3008>

摘要

目的: 探讨超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)在胆道远端炎性狭窄中的治疗价值。

方法: 回顾性分析我中心2010-03/2013-03 EUS在165例胆道远端炎性狭窄患者中的治疗效果。

结果: 165例患者行EUS及十二指肠镜检查及治疗共256次, 分别行鼻胆管引流和/或胆道塑料支架置入术, 治疗后患者临床症状均见缓解, 复查肝功能明显改善, 胆道压力较术前均见减轻。内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)操作成功率98.8%, 术后高淀粉酶血症3例, 轻度胆管炎3例, 急性胰腺炎2例, 并发症发生率4.84%(8/165), 随访1-37 mo(平均17.8 mo \pm 5.3 mo), 狭窄无复发, 121例患者拔除支架, 27例患者仍需定期更换支架。

结论: EUS治疗胆道远段炎性狭窄安全、微创、有效。

■同行评议者

徐辉雄, 教授, 主任医师, 博士生导师, 同济大学附属第十人民医院暨上海市第十人民医院超声科

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声内镜; 胆道远段炎性狭窄; 胆道塑料支架

核心提示: 应用超声内镜(endoscopic ultrasonography)诊断治疗胆管远端狭窄过程中, 可以直接判断胆管壁厚度, 胆道内的压力情况, 对不同情况针对性的制订相关内镜治疗方案, 并对是否拔出支架起到指导作用.

郝芳, 秦鸣放, 李宁. 超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3008-3012 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3008.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3008>

0 引言

胆道远段炎性狭窄是因胆管远段组织结构受损后, 增生的肉芽组织经改建成熟后形成纤维结缔组织, 进而致胆道管腔炎性狭窄的一类疾病. 临床主要表现为反复出现的腹痛、恶心呕吐等消化系症状, 或发热、黄疸等胆管炎表现, 部分患者可无临床症状. 本文所研究的胆管远段炎性狭窄主要与胆管结石、急慢性胰腺炎所致受压性狭窄, 或者奥狄氏括约肌所致功能紊乱性狭窄有关. 传统主要考虑外科手术治疗, 而随着内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)及超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)技术的发展, 使内镜下治疗成为一个重要选择, 本文主要回顾性分析2010-03/2013-03于天津市南开医院微创外科中心治疗的165例胆道远段炎性狭窄患者, 分析报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组165例患者, 男73例, 女92例, 平均年龄57.2岁(23-81岁), 其中69例因上腹部胀痛就诊; 61例因黄疸就诊; 24例因急性胆管炎就诊; 11例体检发现, 病程3 d-16年. 所有患者内镜治疗前经B超检查, 计算机断层X线扫描术(computed tomography, CT)、磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)或术中EUS、腔内超声(intraductal ultrasonography, IDUS)提示胆管远段狭窄, 狭窄段长度>3 mm, 直径<2 mm, 壁厚>0.3 mm, 实验室检查提示不同程度胆红素、谷氨酰转氨酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)升高. 除外原发性硬化性胆管炎所致胆道远段狭窄患者.

1.2 方法

1.2.1 内镜检查及治疗: 常规行ERCP, 插镜过幽门进入十二指肠降段寻找乳头, 常规行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST), 插管成功同时行胆管IDUS检查, 将微型超声探头插入胆管内自近端向远端多次扫查狭窄部位, 确诊胆管远段良性狭窄^[1]并伴炎性改变: 管壁3层结构基本完整, 回声均匀, 边缘光滑, 或者呈高回声全层均匀性增厚, 未见明显低回声肿块及血管侵犯征象. 插管困难患者, 在EUS指导下插管并扫查狭窄部位, 并行胆道测压检查, 对有胆总管结石者行内镜下取石术, 结石过大过硬者(>1.0 cm)可行网篮碎石后取石, 对胆总管狭窄部位行球囊扩张术, 一般在X线监视下, 应用带压力表的注射器向球囊导管内注水或造影剂, 使压力达到8-10 Pa, 保持3-5 min, 间隔1 min后重复扩张可反复2-3次, 后行鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)和/或胆道塑料支架置入术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD), 一般根据患者胆管远端狭窄程度分别放置5、7、10 Fr胆道支架. 所有操作均在患者及家属知情同意后进行.

1.2.2 术后处理: 术后禁食水24 h, 监测血尿淀粉酶情况, 观察生命体征和腹部体征的变化, 对术前腹痛、发热、黄疸等症状改善情况进行评估, 记录内镜后1 wk肝功能变化[血清胆红素、谷氨酰转氨酶(glutamyl transferase, ALT)、GGT、AKP], 进行统计学分析. 随访1-37 mo(平均17.8 mo±5.3 mo), 期间嘱患者口服优思弗(1粒/d)治疗, 观察症状改善情况, 术后3 mo复查IDUS+ERCP, 与术前胆管壁厚度、胆道测压结果进行比较, 并对发现支架堵塞、移位者及时更换支架.

统计学处理 应用SPSS11.0软件进行数据, 计量资料用mean±SD表示, 两组均数比较用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

165例胆道远段炎性狭窄患者经EUS检查均提示胆管远段狭窄段长度>3 mm, 直径<2 mm, 壁厚>0.3 mm, 行胆道测压提示胆道内压力升高(>20 mmHg). 其中合并胆总管结石者59例, 合并慢性胰腺炎者28例, 合并急性胰腺炎者21例, Oddi括约肌狭窄者57例. 共行ERCP+IDUS检查256次, 平均1.6次/例. 其中22例患者ERCP插管困难, 经EUS引导下插管成功后行IDUS+ERCP检查及治

■ 研究前沿

胆管远端炎性狭窄传统多依赖手术治疗, 但因手术复杂, 创伤较大, 并发症多, 效果不十分理想. 随着超声内镜诊疗技术的发展, 极大地提高了诊断治疗成功率.

■ 相关报道

Kondo等报道超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对肝外胆管结石的敏感性和特异性可分别高达91%、100%,但并未将EUS应用于治疗当中。

表 1 患者内镜治疗前后血清胆红素、谷氨酰转氨酶、谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶变化情况 ($n = 163$)

	术前	术后7 d
总胆红素(mmol/L)	63.2 ± 37.1	27.9 ± 23.3 ^a
直接胆红素(mmol/L)	35.8 ± 28.9	18.3 ± 15.3 ^a
谷丙转氨酶(U/L)	86.3 ± 43.2	52.7 ± 19.1 ^a
谷氨酰转氨酶(U/L)	76.2 ± 31.3	40.9 ± 21.5 ^a
碱性磷酸酶(U/L)	712.5 ± 47.1	432.3 ± 27.2 ^a

^a $P < 0.05$ vs 术前。

疗, 2例患者反复插管困难, 治疗失败, 操作成功率98.8%(163/165)。

首次入院期间, 165例患者均行内镜检查, 除外2例插管困难者, 其余163例患者全部行ERCP+IDUS+EST检查及治疗, 其中22例行EUS引导下ERCP+IDUS+EST检查及治疗。59例结石致炎性狭窄患者中39例行取石+ENBD治疗, 9例多次行取石+ENBD术, 11例因取石困难行ENBD+ERBD治疗。28例慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)患者中11例行ENBD+ERBD治疗, 18例行ERBD治疗。21例急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者中11例行ENBD+ERBD治疗, 8例行ERBD治疗, 2例行ENBD治疗, 57例Oddi括约肌狭窄患者均行EST治疗, 其中37例行ENBD治疗。共行EUS检查及治疗256次。均未行细胞学刷检及病理检查。

术后高淀粉酶血症3例, 急性胰腺炎2例, 轻度胆管炎3例, 均经非手术治疗后在24-72 h内恢复正常, 并发症发生率为4.84%(8/165), 其中无出血、穿孔等内镜相关并发症发生, 无死亡报道。

随访1-37 mo(平均17.8 mo ± 5.3 mo), 除29例患者随访期内失访, 其余患者临床症状均缓解, 内镜治疗后1 wk, 复查肝功能可见好转(表1)。3 mo后除外4例失访患者, 余复查胆道压力有下降趋势, 复查胆管壁厚度明显改善(表2)。随访期间共79例患者因支架堵塞、移位需更换支架, 至随访期结束121例患者经IDUS检查提示狭窄消除后予拔除支架。

3 讨论

胆道远段炎性狭窄是外科常见疾病, 主要因胆道远段炎性损伤后纤维结缔组织增生致管腔狭窄, 而出现反复发作的腹痛、发热、黄疸等相关临床表现的一类疾病。传统多依赖外科手术

表 2 患者内镜治疗前后胆道测压及胆管壁厚度变化情况 ($n = 159$)

	术前	术后3 mo
胆道压力(mmHg)	65.2 ± 11.3	24.9 ± 12.2 ^a
胆管壁厚度(mm)	0.3 ± 0.23	0.2 ± 0.15 ^a

^a $P < 0.05$ vs 术前。排除术后3 mo失访4例患者。

治疗, 但手术方式较复杂, 术后并发症发生率高, 疗效不十分理想^[2]。近年来随着内镜技术的发展, 为临床治疗胆管远端炎性狭窄、解除胆管梗阻、通常引流胆汁、缓解临床症状提供了一种新思路。同时EUS对部分插管困难患者在内镜治疗时可以起到一定指导作用, 提高临床成功率。

对胆管狭窄诊断常采用B超、CT、MRCP、ERCP等相关检查, 虽然可以比较明确的定位胆管狭窄的部位和程度, 但准确性并不高^[3], 而将EUS联合应用于诊断过程中, 可以大大提高临床诊断的敏感性和特异性^[4], 确定胆管远段炎性狭窄的原因、部位、程度以及狭窄病灶周围毗邻组织的情况, 是目前诊断胆道狭窄众多检查方法中最有价值的方法。文献表明EUS对肝外胆管结石的敏感性和特异性可分别高达91%、100%^[5]。

引发良性胆道狭窄的病因^[6]主要包括受压性炎性狭窄(如胆管结石、急性慢性胰腺炎)、损伤性狭窄(胆囊切除等胆道手术)及功能紊乱性狭窄(如Oddi括约肌狭窄)等。本文中涉及的胆道远段炎性狭窄主要包括奥狄氏括约肌狭窄, 胆管结石及急性慢性胰腺炎所致狭窄。胆管结石所致急性胆管炎者, 胆管黏膜存在不同程度充血、水肿、溃疡甚至出血, 结石刺激使胆管壁黏膜正常结构破坏, 致使“炎性胆栓”附着^[7], 造成胆管不同程度的炎性狭窄。AP、CP合并胆道狭窄以肝外胆管胰腺段狭窄较为多见, 可能与胰头部炎症纤维化压迫及浸润经胰腺后方穿行的胆管壁而造成胆管狭窄有关^[8], 而Oddi括约肌狭窄者^[9], 胆道内压力明显较正常增高, 本组研究中均>40 mmHg, 造成胆道排空障碍, 出现相关临床症状。

治疗时先行EST术, 可有效解决括约肌狭窄造成的胆总管远端狭窄, 改善患者肝功能^[10], 尤其适用于Oddi括约肌狭窄患者, EST联合ENBD外引流可有效缓解症状。利用胆道压力^[11]的情况, 可以指导内镜治疗下十二指肠乳头括约肌

切开范围,大、中、小切开,避免胆管压力大幅度下降,甚至于十二指肠压力差为零时,十二指肠液逆流流入胆管继发的胆道感染^[12],有效的降低内镜后胰腺炎及高淀粉酶血症的风险。本组163例患者均行EST术,主要解决胆管括约肌狭窄,为下一步治疗打下基础。根据引发狭窄的原因决定内外引流治疗及治疗时间,对胆道炎性狭窄患者,单纯扩张狭窄容易复发,需长期放置ERBD内引流巩固疗效,其后每3 mo行EUS复查支架情况,观察支架位置及所在位置胆管壁厚度、胆管内压力变化,以防支架滑脱后形成瘢痕造成再狭窄。文中涉及的急慢性胰腺炎引发胆管远段狭窄者,行胆管内外引流即可有效缓解腹痛症状,并未行胰管括约肌切开及胰管支架置入等治疗。当然,对于胰管狭窄患者行胰管支架置入术,可以有效缓解胰管梗阻^[13,14]。

目前,对于胆道塑料支架的留置时间仍没有明确规定,有报道支架留置时间过长可能发生阻塞性黄疸等症状^[15],一般建议每2-3月复查B超、CT,根据症状及胆管狭窄的改善情况决定移除或更换支架。我们认为狭窄解除标准可暂定为:胆管原狭窄段管径明显扩张,直径打近端胆管直径80%以上;内镜下应用8-10 mm球囊可顺利通过狭窄段或造影剂在5 min内顺畅排入十二指肠;支架拔出后肝功能恢复正常;临床症状未复发达3 mo以上。狭窄复发标准:支架拔出3 mo后再次出现相关临床症状,并经影像学等相关检查证实胆道狭窄存在。本文中随访结束时仍有27例患者需定期更换支架。

在内镜治疗方面,首选十二指肠镜联合腔内超声检查及治疗,163例患者全部行腔内超声检查,对于部分插管困难患者,可采用EUS指导下胆管插管,进而行腔内超声,明确狭窄段长度、狭窄部位,尤其注意炎性狭窄致狭窄段壁厚度的变化。相对传统内镜治疗而言,手术操作时间相对延长,但准确性明显提高。其临床诊断治疗成功率均较高,可以有效缓解患者腹痛、黄疸等症状,改善肝功能情况,同时,术后3 mo对部分拔除支架患者再次复查EUS检查可发现胆大压力、胆管壁厚度明显较前改善,临床成功率有大幅度提高。IDUS是将微超声探头置入胆管胰管内扫查以诊断胆胰管疾病的一种新技术^[16],可显示正常胆管壁由内而外呈高-低-高回声的3层结构,从而鉴别胆管狭窄的良恶性,明确胆管本身疾病抑或胆管外疾病并对胆管狭窄的程度

作出判断。ERCP术中结合IDUS对胆管狭窄诊断的准确性及敏感性均高于EUS,能更好地显示胆管周围组织与病变的关系,但操作有一定难度,并且仅能显示管壁本身及管腔附近病变,显示病变与胆管、胰腺周围结构的关系则较为困难,EUS可以弥补此方面缺陷,尤其对于反复插管困难的患者,应用EUS可以更好地明确胆管胰腺周围病变,指导插管,避免内镜后胰腺炎发生,减少术后并发症。

本组165例患者共行ERCP治疗256次,术后高淀粉酶血症3例,急性胰腺炎2例,轻度胆管炎3例,均经非手术治疗后在72 h内恢复正常,无出血、穿孔、急性胰腺炎等内镜相关并发症发生,亦无死亡病例,并发症发生率4.84%(8/165)。

总之,EUS治疗胆道远段炎性狭窄创伤小,术后并发症少,可重复操作,是一种微创、安全、有效的办法,集诊断与治疗于一身,提高临床诊断准确与精确性,目前仍需大样本、随机对照研究。

4 参考文献

- 1 Tamada K, Ueno N, Tomiyama T, Oohashi A, Wada S, Nishizono T, Tano S, Aizawa T, Ido K, Kimura K. Characterization of biliary strictures using intraductal ultrasonography: comparison with percutaneous cholangioscopic biopsy. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 341-349 [PMID: 9609424 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70216-0]
- 2 Tocchi A, Mazzoni G, Liotta G, Costa G, Lepre L, Miccini M, De Masi E, Lamazza MA, Fiori E. Management of benign biliary strictures: biliary enteric anastomosis vs endoscopic stenting. *Arch Surg* 2000; 135: 153-157 [PMID: 10668872]
- 3 Tantau M, Pop T, Badea R, Spirchez Z, Moşteanu O, Tantau A. Intraductal ultrasonography for the assessment of preoperative biliary and pancreatic strictures. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 217-222 [PMID: 18568147]
- 4 Meister T, Heinzow HS, Woestmeyer C, Lenz P, Menzel J, Kucharzik T, Domschke W, Domagk D. Intraductal ultrasound substantiates diagnostics of bile duct strictures of uncertain etiology. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 874-881 [PMID: 23430958]
- 5 Kondo S, Isayama H, Akahane M, Toda N, Sasahira N, Nakai Y, Yamamoto N, Hirano K, Komatsu Y, Tada M, Yoshida H, Kawabe T, Ohtomo K, Omata M. Detection of common bile duct stones: comparison between endoscopic ultrasonography, magnetic resonance cholangiography, and helical-computed-tomographic cholangiography. *Eur J Radiol* 2005; 54: 271-275 [PMID: 15837409]
- 6 Menzel J, Poremba C, Dietl KH, Domschke W. Preoperative diagnosis of bile duct strictures-comparison of intraductal ultrasonography with conventional endosonography. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 77-82 [PMID: 10672839]
- 7 Ieidler J. Squel of cholecystectomy. *Gastroentrel*

■创新盘点

对胆管远端狭窄患者治疗前行EUS检查观察胆管壁厚度变化,并行胆道测压检查,术后3 mo复查可见指标明显改善。

■同行评价

本文总结EUS治疗胆管远端狭窄的资料经验,有一定临床参考价值.

- 1997; 35: 139
- 8 Catalano MF, Linder JD, George S, Alcocer E, Geenen JE. Treatment of symptomatic distal common bile duct stenosis secondary to chronic pancreatitis: comparison of single vs. multiple simultaneous stents. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 945-952 [PMID: 15605010]
- 9 Behar J, Corazziari E, Guelrud M, Hogan W, Sherman S, Tooouli J. Functional gallbladder and sphincter of oddi disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1498-1509 [PMID: 16678563 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.063]
- 10 Ewald N, Marzeion AM, Bretzel RG, Kloer HU, Hardt PD. Endoscopic sphincterotomy in patients with stenosis of ampulla of Vater: three-year follow-up of exocrine pancreatic function and clinical symptoms. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 901-905 [PMID: 17352020]
- 11 Chen YK, Foliente RL, Santoro MJ, Walter MH, Colleen MJ. Endoscopic sphincterotomy-induced pancreatitis: increased risk associated with nondilated bile ducts and sphincter of Oddi dysfunction. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 327-333 [PMID: 8122639]
- 12 Kelly E, Williams JD, Organ CH. A history of the dissolution of retained choledocholithiasis. *Am J Surg* 2000; 180: 86-98 [PMID: 11044519 DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00428-1]
- 13 Vitale GC, Cothron K, Vitale EA, Rangnekar N, Zavaleta CM, Larson GM, Binford J, Hammond B. Role of pancreatic duct stenting in the treatment of chronic pancreatitis. *Surg Endosc* 2004; 18: 1431-1434 [PMID: 15791364 DOI: 10.1007/s00464-003-8933-z]
- 14 Vitale GC, Reed DN Jr, Nguyen CT, Lawhon JC, Larson GM. Endoscopic treatment of distal bile duct stricture from chronic pancreatitis. *Surg Endosc* 2000; 14: 227-231 [DOI: 10.1007/s004640030046]
- 15 Bergman JJ, Burgemeister L, Bruno MJ, Rauws EA, Gouma DJ, Tytgat GN, Huibregtse K. Long-term follow-up after biliary stent placement for postoperative bile duct stenosis. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 154-161 [PMID: 11474383 DOI: 10.1067/mge.2001.116455]
- 16 Stavropoulos S, Larghi A, Verna E, Battezzati P, Stevens P. Intraductal ultrasound for the evaluation of patients with biliary strictures and no abdominal mass on computed tomography. *Endoscopy* 2005; 37: 715-721 [PMID: 16032489 DOI: 10.1055/s-2005-870132]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义

李晓宇, 田字彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹

李晓宇, 田字彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003

李晓宇, 主治医师, 主要从事胰腺癌发病机制的研究。

作者贡献分布: 李晓宇与田字彬对此文所作贡献均等; 此课题由李晓宇、田字彬及张翠萍共同设计; 研究过程由李晓宇、单信芝、刘晓英、赵文君及李丹操作完成; 研究所用工具由田字彬、张翠萍及李新华提供; 数据分析由李晓宇、徐永红、李新华及武军操作完成; 论文写作由李晓宇、单信芝、张翠萍及田字彬完成。

通讯作者: 田字彬, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科。tianzb@qdmh.qd.sd.cn
电话: 0532-82911302

收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-09

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-08

Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer

Xiao-Yu Li, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Cui-Ping Zhang, Xiao-Ying Liu, Yong-Hong Xu, Xin-Hua Li, Jun Wu, Wen-Jun Zhao, Dan Li

Xiao-Yu Li, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Cui-Ping Zhang, Xiao-Ying Liu, Yong-Hong Xu, Xin-Hua Li, Jun Wu, Wen-Jun Zhao, Dan Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdmh.qd.sd.cn

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-09

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To detect the expression of Yes-associated protein (YAP), a component of the Hippo signaling pathway, in human pancreatic cancer, and to explore the correlation between the expression of YAP and clinicopathologic features of pancreatic cancer.

METHODS: Immunohistochemistry was used to investigate the protein expression of YAP in 45 pancreatic cancer specimens and 15 normal pancreatic tissue specimens. The mRNA expression of YAP was detected by RT-PCR.

RESULTS: YAP was mainly expressed in pancreatic ductal epithelial cells. The positive rate of YAP

expression was significantly higher in pancreatic cancer than in normal pancreatic tissue (93.33% vs 26.67%, $P < 0.05$). The mRNA expression of YAP in pancreatic cancer was significantly higher than that in normal pancreatic tissue (0.3682 ± 0.0783 vs 0.0394 ± 0.0091 , $P < 0.05$). The expression of YAP was associated with degree of differentiation of pancreatic cancer but had no correlation with age, lymph node metastasis, clinical stage, smoking, drinking, or diabetes mellitus.

CONCLUSION: The expression of YAP may play an important role in the development of pancreatic cancer, and YAP may be a new target for therapy of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: YAP; Hippo signaling pathway; Pancreatic cancer; Ductal epithelial cells

Li XY, Tian ZB, Shan XZ, Zhang CP, Liu XY, Xu YH, Li XH, Wu J, Zhao WJ, Li D. Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3013-3018 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3013.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3013>

摘要

目的: 检测Hippo-YAP信号通路中主要效应蛋白Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其表达强度与临床病理因素之间的关系及意义。

方法: 应用免疫组织化学EnVision法测定Hippo信号通路中YAP蛋白在45例胰腺癌及15例正常胰腺组织中的表达, 应用RT-PCR方法检测YAP mRNA在45例胰腺癌及15例正常胰腺组织中的表达。

结果: 胰腺癌组织中YAP蛋白主要表达于胰腺导管上皮细胞, 45例胰腺癌组织中YAP的阳性表达率为93.33%(42/45), 15例正常胰腺组织中YAP阳性表达率为26.67%(4/15), 两组间的表达差异具有统计学意义($\chi^2 = 27.95$, $P < 0.01$)。

■背景资料

胰腺癌的致病因素包括长期大量吸烟、饮酒、喝咖啡者, 糖尿病患者, 慢性胰腺炎患者发病率较高。也可能与内分泌有关, 以及炎症介质的参与, 癌基因的激活与抑癌基因的失活, 信号通路的异常等。Hippo通路是近年来新发现的信号通路, 近年来研究表明其在肿瘤的发生发展中也起到重要的作用。

■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科; 吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研究前沿

研究发现, Hippo信号通路作为近年来新的信号通路, 其与细胞的增殖与凋亡密切相关, 目前Hippo信号通路与肿瘤的相关研究正逐渐成为热点, 而Hippo信号通路与胰腺癌的关系也逐渐引起人们的重视。

在胰腺癌组织中YAP的表达与肿瘤分化程度密切相关($P = 0.048$), 与年龄、性别、吸烟、饮酒、肥胖、糖耐量异常、糖尿病、慢性胰腺炎及临床分期等无关(P 值分别是0.577、0.565、0.541、0.224、1.000、0.542、0.555、0.571、0.926)。胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度呈正相关。YAP mRNA在胰腺癌组织中的表达较正常胰腺组织明显升高(0.3682 ± 0.0783 vs 0.0394 ± 0.0091 , $P < 0.01$)。

结论: Hippo-YAP通路可能在胰腺癌的发生、发展中发挥重要作用, 并有可能成为胰腺癌治疗中新的靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Yes相关蛋白; Hippo信号通路; 胰腺癌; 导管上皮细胞

核心提示: Hippo-Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)信号通路已被证实与胃癌、食管癌、结肠癌等多种肿瘤的发生和转移有关, 本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用。

李晓宇, 田宇彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹. Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3013-3018 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3013.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3013>

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的肿瘤之一, 位列消化系统肿瘤死亡原因的第2位, 发病率和死亡率在世界范围内呈逐年上升趋势^[1]。Hippo-YAP通路为新近发现的一种调节器官发育的关键信号通路^[2]。他最先在果蝇体内被发现, 调控这条通路可以观察到果蝇眼睛和翅膀大小的变化。Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)是哺乳动物Hippo-YAP信号通路的主要效应因子。YAP的过度表达会造成组织器官的增大, 相反, YAP的失活会造成组织器官萎缩。Hippo-YAP信号通路已被证实与胃癌、食管癌、结肠癌等多种肿瘤的发生和转移有关, 但在胰腺癌中鲜有报道。本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集青岛大学医学院附属医院肝胆外

科2011-2012年胰腺癌手术切除标本45例。胰腺癌患者术前均未行放化疗治疗, 术后经病理组织学检查确诊, 均为原发性胰腺导管腺癌。其中男性20例, 女性25例。年龄46-79岁, 平均年龄 62.00 ± 12.51 岁。胰头29例, 胰体尾16例。低分化腺癌26例, 中分化腺癌14例, 高分化腺癌5例。TNM分期: I期28例、II期15例、III期2例。因其他原因切除的正常胰腺组织15例, 其中男性5例, 女性10例, 年龄27-59岁, 平均年龄 40.00 ± 13.01 岁。需行免疫组织化学检查的标本经4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 切片及苏木素-伊红(HE)染色。同时取新鲜手术标本保存在液氮罐中供PCR检测用。收集胰腺癌患者临床资料, 包括: 性别、年龄、吸烟、饮酒、体质量指数(body mass index, BMI)、是否有糖耐量异常、是否合并糖尿病或慢性胰腺炎、血清CA19-9水平等。本研究方案获青岛大学医学院附属医院伦理委员会批准。兔抗人YAP单克隆抗体购自美国Epitomics公司, 抗体稀释液及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色检测: 应用免疫组织化学染色法(EnVision法)检测。石蜡标本以4 μm 切片, 常规脱蜡、水化, 3% H_2O_2 微波孵育2 min, 阻断内源性过氧化物酶。以柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)作为抗原修复液微波热修复3次 \times 5 min。分别滴加1-2滴兔抗人YAP抗体(EP1674Y, 1:100稀释), 以PBS代替一抗作为阴性对照。4 $^{\circ}\text{C}$ 湿盒内孵育过夜。PBS冲洗后, 滴加1-2滴EnVisionTM(Geneteck公司, GK500705)孵育45 min。DAB显色15 min。苏木素复染3 min。以YAP表达阳性的肝癌组织切片作为阳性对照。

1.2.2 结果判定: YAP定位于细胞质或细胞核中, 阳性染色为胞质或胞核染成棕黄色。染色强度(A)分为0分(无染色)、1分(弱染色)、2分(中度染色)、3分(强染色)。3个随机选取的视野中, 根据200个细胞中阳性细胞所占的比例数(B)分为0(<5%)、1(5%-25%)、2(26%-50%)、3(51%-75%)、4(>75%)。A与B结果相乘, 结果分为0(-)、低表达1-4(+), 中度表达5-8(++), 高度表达9-12(+++)。

1.2.3 荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR): TRIzol法提取胰腺癌组织和正常胰腺组织总RNA, 逆转录反应依照TaKaRa公司逆转录试剂盒说明书进行操作。将逆转录产物进行PCR反

表 1 YAP在胰腺组织中的表达

胰腺组织	<i>n</i>	不表达(0分)	低表达(1-4分)	中表达(5-8分)	高表达(9-12分)	阳性率(%)	χ^2	<i>P</i> 值
胰腺癌组织	45	3	5	15	22	93.33%	27.950	0.000
正常胰腺组织	15	11	3	1	0	26.67%		
合计	60	14	8	16	22			

应, 体系如下: cDNA 2 μ L, 2 \times SYBR Premix Ex Taq II 10 μ L, 上下游引物各2 μ L, ddH₂O 4.8 μ L. YAP上游引物: 5'-TGAACAAACGTCCAGCAA-GATAC-3', 下游引物5'-CAGCCCCCAAATGAACAGTAG-3', 扩增长度134 bp; GAPDH上游引物: 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物: 5'-CACCCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增长度121 bp. 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性30 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 扩增40个循环. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算YAP基因和内参基因的相对含量.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据统计分析, 实验数据以mean \pm SD形式表示, 免疫组织化学数据各组之间的比较采用卡方检验(χ^2), 应用非参数统计中Spearman等级相关分析胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP免疫组织化学阳性程度的相关性, 应用非配对*t*检验检测胰腺癌组织和正常胰腺组织中YAP mRNA表达差异. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达情况 在正常胰腺组织中, YAP主要在胰腺导管上皮细胞的细胞质中呈低至中度表达, 在部分细胞核中有表达, 在胰腺腺泡和泡心细胞中无表达. 在胰腺癌组织中, YAP在导管上皮细胞中呈高度表达, 且主要是细胞质和细胞核表达(图1). 胰腺癌组织中YAP阳性表达率为93.33%, 正常胰腺组织中阳性表达率为26.67%, 差异具有显著统计学意义($\chi^2=27.95$, $P<0.01$, 表1).

2.2 YAP mRNA在正常胰腺组织和胰腺癌中的表达 RT-PCR结果显示, YAP mRNA在胰腺癌组中的相对表达量是正常胰腺组织的9.35倍, 表达差异具有高度统计学意义(0.3682 ± 0.0783 vs 0.0394 ± 0.0091 , $P<0.01$).

2.3 YAP表达与胰腺癌临床病理参数之间的关系 YAP在胰腺癌组织中的阳性表达差异与肿瘤的分化程度($\chi^2=5.294$, $P=0.048$)有明显的统计学意义, 而与年龄、性别、吸烟、饮酒、肥胖、糖耐量异常、糖尿病、慢性胰腺炎、临床分期

等无关($P>0.05$, 表2).

2.4 胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度相关 在胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP免疫组织化学的阳性程度呈正相关($r=0.652$, $P<0.01$), 即胰腺癌组织中YAP阳性程度越高对应CA19-9水平也越高.

3 讨论

Hippo-YAP通路为新近发现的一种调节器官大小发育的关键信号通路, 是一种细胞分裂和死亡的控制开关. 他最先在果蝇体内发现, 调控这条通路可以观察到果蝇的眼睛和翅膀大小的变化^[2]. 在哺乳动物中同样是细胞增殖的负向调控通路, 核心分子组成为: Mst1/2、WW45、Lats、Mob1及YAP^[3]. YAP是哺乳动物Hippo-YAP信号通路的主要效应因子. 其转录辅助活性取决于YAP在细胞内的位置: 磷酸化的YAP于胞浆中积聚, 通过磷酸化的ser127与14-3-3蛋白相结合而无法进入细胞核, 而非磷酸化的YAP可以进入细胞核, 与带有PDZ结合基序的转录增强因子TAZ形成复合体, 与TEA功能域转录因子(TEA domain transcription factor, TEAD)结合, 诱导下游转录因子细胞周期蛋白E(cyclinE)以及凋亡调控因子cIAP1等表达增加, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡^[4]. 除此之外, Hippo-YAP信号通路还与细胞间接触抑制^[5]、上皮细胞间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[4]等密切相关, 参与多种肿瘤的发生、发展以及转移过程.

YAP通过与抑癌基因p73相互作用上调Bax的表达, 加速A β (25-35)介导的细胞凋亡^[6]. YAP通过上调BIRC2/cIAP1, 促进细胞增殖和抑制细胞凋亡, 同时他们还发现在肝癌中YAP可以诱导*c-myc*、*SOX4*、*H19*及*AFP*等与正常肝细胞增殖相关基因以及IAP(凋亡抑制因子)家族中*BIRC5*/*Survivin*等凋亡抑制基因的表达^[7]. YAP的高表达和肝癌细胞的低分化、高血清AFP表达及再发肝癌的血管渗透呈强烈正相关^[8]. 在肝细胞中过表达YAP可使肝脏过度生长并最终导

■创新盘点

目前关于Hippo通路与胃癌、肝癌等均有研究, 而与胰腺癌关系的研究较少, 本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用.

■应用要点

本实验通过免疫组织化学、RT-PCR等方法研究胰腺癌与Hippo通路的核心组件YAP的关系,从分子方面研究了胰腺癌的发生发展机制,为胰腺癌的靶向治疗提供了一定的理论依据。

表 2 胰腺癌组织中YAP阳性表达强度与临床病理因素的关系

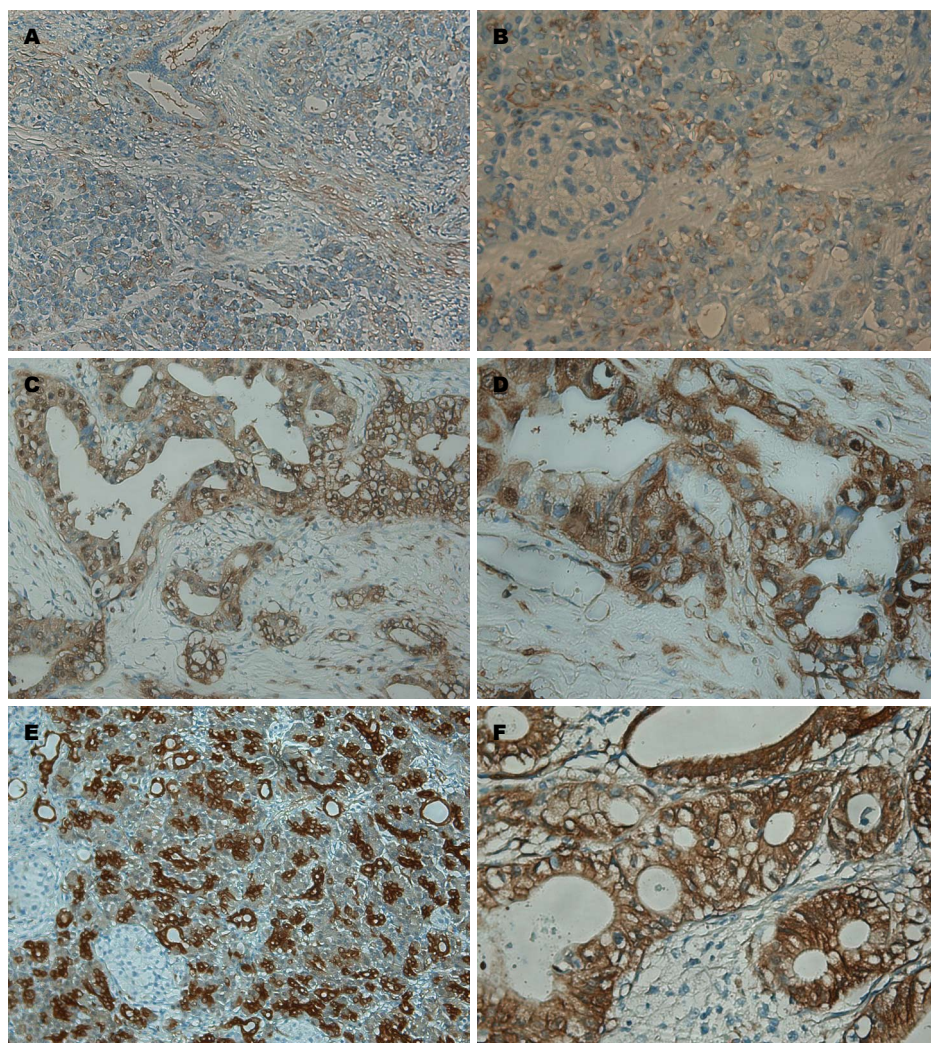
	不表达(0分)	低表达(1-4分)	中表达(5-8分)	高表达(9-12分)	χ^2	P值
性别					0.643	0.577
男	2	3	5	10		
女	1	2	10	12		
年龄(岁)					0.787	0.565
>60	1	4	8	13		
<60	2	1	7	9		
吸烟					1.452	0.541
有	3	4	9	15		
无	0	1	6	7		
饮酒					1.896	0.224
有	1	3	11	16		
无	2	2	4	6		
肥胖BMI(kg/m ²)					0.000	1.000
>27	2	4	9	15		
<27	1	1	6	7		
糖耐量异常					1.773	0.542
有	3	3	9	14		
无	0	2	6	8		
糖尿病					0.952	0.555
有	1	2	8	16		
无	2	3	7	6		
慢性胰腺炎					0.643	0.577
有	2	2	6	10		
无	1	3	9	12		
分化程度					5.294	0.048
低分化	0	1	11	16		
中、高分化	3	4	4	6		
T分期					2.143	0.543
T1	2	1	3	9		
T2	1	2	6	6		
T3	0	2	5	6		
T4	0	0	1	1		
N分期					0.592	1.000
N0	3	3	13	19		
N1	0	2	2	3		
临床分期					0.153	0.926
I	2	3	11	12		
II	1	2	4	8		
III	0	0	0	2		

BMI: 体质质量指数。

致肝癌的发生^[9,10]。YAP在肾透明细胞癌中也表达增加,与肿瘤分化程度有关,提示YAP在肾透明细胞癌发生发展过程中起重要作用^[11]。

我们课题组之前的研究证实,YAP在正常胃黏膜组织、肠上皮化生、不典型增生和胃癌组织中的表达依次升高,且在胃癌组织中YAP的表达与胃癌分化程度及淋巴结转移密切相关,提

示其在胃癌的发生、发展、转移过程中发挥重要作用^[12]。在食管炎、Barrett食管、食管不典型增生、食管癌组织中也证实了YAP阳性表达率依次升高。有研究发现Hippo-YAP通路在胰腺胚胎发育过程中起到重要作用,YAP可以维持胰腺腺泡细胞后天分化^[13]。但在胰腺癌组织中相关研究较少。我们的研究发现,YAP蛋白在胰腺癌组



■同行评价
本研究内容比较
重要,有新颖性.

图 1 YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达. A: 正常胰腺组织中YAP表达较弱, 主要表达与细胞质($\times 200$); B: 正常胰腺组织中YAP表达($\times 400$); C: 高中分化程度的胰腺癌中YAP表达较正常胰腺组织强, 并在细胞质和细胞核都有表达($\times 200$); D: 高中分化程度的胰腺癌中YAP表达($\times 400$); E: 低分化程度的胰腺癌中YAP表达较高中分化程度的胰腺癌表达强, 并在细胞质和细胞核都有表达($\times 200$); F: 低分化程度的胰腺癌中YAP表达($\times 400$).

织较正常胰腺组织中表达明显升高. 在正常胰腺组织中, YAP主要在胰腺导管上皮细胞的细胞质中呈低至中度表达, 在胰腺腺泡细胞和泡心细胞中无表达. 而在胰腺癌组织中, YAP在导管上皮细胞中呈高度表达, 主要是细胞质和细胞核表达, 与肿瘤分化程度密切相关: 肿瘤分化程度越低, YAP免疫组织化学的表达率越高, 这提示YAP在胰腺癌的发生、发展过程中发挥重要作用.

胰腺癌的发生是遗传和环境因素共同作用的结果, 流行病学、分子生物学和遗传学研究认为多个生物因素和社会因素可能导致胰腺癌发生的危险性增加. 吸烟是胰腺癌公认的危险因素^[14], 大量的流行病学研究不断为此提供新证据. 肥胖者和糖尿病患者发生胰腺癌的风险也显著升高. 糖尿病可能是病因, 也可能是胰腺癌

的临床表现. 有学者提出要重视非典型糖尿病(无糖尿病家族史、无肥胖和有胰岛素依赖)患者发生胰腺癌的危险性^[15]. 新发糖尿病可能为胰腺癌的早期诊断提供线索^[16]. 我们收集了45例胰腺癌患者的临床资料, 包括: 性别、年龄、吸烟、饮酒、肥胖BMI、是否有糖耐量异常、是否合并糖尿病或慢性胰腺炎等. 我们发现这些高危因素如吸烟、肥胖、合并糖尿病等与YAP在胰腺癌中的表达无明显关系, 这可能与我们的资料数较少有关.

CA19-9为唾液酸化的乳-N-岩藻戊糖 II, 是一种类粘蛋白的糖蛋白成分, 是目前公认的对胰腺癌有诊断价值的肿瘤标志物. CA19-9升高对于良恶性肿瘤鉴别、诊断、手术疗效评估有重要意义^[17]. 有研究显示, CA19-9水平与胰腺癌的TNM分期呈正相关, 与生存期呈负相关, 为反

映预后和复发的重要指标^[17,18]。高频超声治疗后能明显下调胰腺癌血清CA19-9水平^[19]。我们的研究发现胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度正相关,提示YAP对于胰腺癌的进展和预后有提示意义。

总之,本研究表明YAP在胰腺癌组织中表达较正常胰腺组织增加,并与胰腺癌分化程度有关,并且胰腺癌组织中YAP阳性程度与患者血清CA19-9水平呈正相关。这些结果提示Hippo-YAP通路可能在胰腺癌的发生、发展中发挥重要作用,并有可能成为胰腺癌治疗中新的靶点。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Badouel C, Garg A, McNeill H. Herding Hippos: regulating growth in flies and man. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21: 837-843 [PMID: 19846288 DOI: 10.1016/j.ccr.2011]
- 3 Zeng Q, Hong W. The emerging role of the hippo pathway in cell contact inhibition, organ size control, and cancer development in mammals. *Cancer Cell* 2008; 13: 188-192 [PMID: 18328423 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.02.011]
- 4 Li Z, Zhao B, Wang P, Chen F, Dong Z, Yang H, Guan KL, Xu Y. Structural insights into the YAP and TEAD complex. *Genes Dev* 2010; 24: 235-240 [PMID: 20123905 DOI: 10.1101/gad.1865810]
- 5 Zhao B, Wei X, Li W, Udan RS, Yang Q, Kim J, Xie J, Ikenoue T, Yu J, Li L, Zheng P, Ye K, Chinnaiyan A, Halder G, Lai ZC, Guan KL. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev* 2007; 21: 2747-2761 [PMID: 17974916 DOI: 10.1101/gad.1602907]
- 6 Zhang H, Wu S, Xing D. YAP accelerates A β (25-35)-induced apoptosis through upregulation of Bax expression by interaction with p73. *Apoptosis* 2011; 16: 808-821 [PMID: 21562856 DOI: 10.1007/s10495-011-0608-y]
- 7 Zender L, Spector MS, Xue W, Flemming P, Cordon-Cardo C, Silke J, Fan ST, Luk JM, Wigler M, Hannon GJ, Mu D, Lucito R, Powers S, Lowe SW. Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach. *Cell* 2006; 125: 1253-1267 [PMID: 16814713 DOI: 10.1016/j.cell.2006.05.030]
- 8 Xu MZ, Yao TJ, Lee NP, Ng IO, Chan YT, Zender L, Lowe SW, Poon RT, Luk JM. Yes-associated protein is an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 4576-4585 [PMID: 19551889 DOI: 10.1002/cncr.24495]
- 9 Dong J, Feldmann G, Huang J, Wu S, Zhang N, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan D. Elucidation of a universal size-control mechanism in Drosophila and mammals. *Cell* 2007; 130: 1120-1133 [PMID: 17889654]
- 10 Zhou D, Conrad C, Xia F, Park JS, Payer B, Yin Y, Lauwers GY, Thasler W, Lee JT, Avruch J, Bardeesy N. Mst1 and Mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the Yap1 oncogene. *Cancer Cell* 2009; 16: 425-438 [PMID: 19878874 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.09.026]
- 11 赵修民, 王德林, 马强. Yes-相关蛋白和大肿瘤抑制基因1在肾透明细胞瘤中的表达及意义. *中华泌尿外科杂志* 2012; 33: 171-175
- 12 魏文超, 张翠萍, 张琪, 王小玮, 张红珠, 赵坤, 田字彬. Hippo信号通路在胃黏膜癌变过程中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3027-3032
- 13 Gao T, Zhou D, Yang C, Singh T, Penzo-Méndez A, Maddipati R, Tzatsos A, Bardeesy N, Avruch J, Stanger BZ. Hippo signaling regulates differentiation and maintenance in the exocrine pancreas. *Gastroenterology* 2013; 144: 1543-1553. e1 [PMID: 23454691 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.037]
- 14 Momi N, Kaur S, Ponnusamy MP, Kumar S, Wittel UA, Batra SK. Interplay between smoking-induced genotoxicity and altered signaling in pancreatic carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1617-1628 [PMID: 22623649]
- 15 Bonelli L, Aste H, Bovo P, Cavallini G, Felder M, Gusmaroli R, Morandini E, Ravelli P, Briglia R, Lombardo L, De Micheli A, Pugliese V. Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking, and diabetes mellitus: a case-control study in northern Italy. *Pancreas* 2003; 27: 143-149 [PMID: 12883263 DOI: 10.1097/00006676-200308000-00007]
- 16 Pannala R, Basu A, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10: 88-95 [PMID: 19111249 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70337-1]
- 17 曾勇, 宁立芬, 方江, 冯茂辉, 袁先厚. 联合应用肿瘤标记物在胰腺癌诊断中的意义. *中华实验外科杂志* 2010; 27: 526-527
- 18 李兆申, 蔡振寨. 胰腺癌早期诊断最新进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1175-1178
- 19 王纘, 史兵伟, 葛信国. 高能聚焦超声治疗前、后胰腺癌患者血清CEA、CA19-9的变化. *中华物理医学与康复杂志* 2006; 28: 775-777

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比

金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞

金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142

金晓维, 主治医师, 主要从事消化内镜诊断和治疗的研究。

作者贡献分布: 此课题由金晓维与朱鸣设计; 研究过程由金晓维、张静、朱鸣、毛高平、宁守斌、唐杰及李彦飞操作完成; 数据分析由金晓维与朱鸣完成; 本论文写作由金晓维完成。

通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 空军总医院消化内科。zhuming20121226@sina.cn

收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-08

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy

Xiao-Wei Jin, Jing Zhang, Ming Zhu, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jie Tang, Yan-Fei Li

Xiao-Wei Jin, Jing Zhang, Ming Zhu, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jie Tang, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China

Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhuming20121226@sina.cn

Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-08

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To compare the clinical application value of single balloon enteroscopy (SBE) and double balloon enteroscopy (DBE).

METHODS: Clinical data for 720 subjects who underwent enteroscopy (510 cases of SBE and 210 cases of DBE) from January 2007 to September 2012 were retrospectively analyzed. Procedure duration, intubation depth, diagnostic yield and endoscopic treatment rate were compared between the two groups.

RESULTS: No significant difference was found between the two groups in procedure duration (SBE 54.41 min \pm 11.742 min vs DBE 54.94 min \pm 12.315 min for the oral approach, SBE 64.71 min \pm 12.359 min vs DBE 65.81 min \pm 13.995 min for the anal approach), intubation depth (SBE 235.12 cm \pm 87.831 cm vs DBE 219.94 cm \pm 68.226 cm for the oral approach, SBE 187.75 cm \pm 67.037

cm vs DBE 172.37 cm \pm 81.808 cm for the anal approach), diagnostic yield (SBE 77.05% vs DBE 75.67% for the oral approach, SBE 70.18% vs DBE 76.77% for the anal approach) or endoscopic treatment rate (SBE 46.58% vs DBE 48.85% for the oral approach, SBE 35.32% vs DBE 33.33% for the anal approach).

CONCLUSION: SBE and DBE have comparable performance and diagnostic yield in the evaluation of the small bowel. SBE is an effective method for the diagnosis and treatment of small bowel diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Single balloon enteroscopy; Double balloon enteroscopy; Clinical data

Jin XW, Zhang J, Zhu M, Mao GP, Ning SB, Tang J, Li YF. Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3019-3023 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3019.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3019>

摘要

目的: 比较单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)及双气囊小肠镜(double balloon enteroscopy, DBE)的临床应用价值。

方法: 回顾性分析2007-01/2012-09在我院消化内镜室检查的720例次患者的临床资料(SBE组510例次, DBE组210例次)。记录小肠镜检查的检查时间、插镜深度、病变发现率、镜下治疗率。

结果: SBE与DBE比较, 检查时间(经口SBE 54.41 min \pm 11.742 min vs DBE 54.94 min \pm 12.315 min, 经肛SBE 64.71 min \pm 12.359 min vs DBE 65.81 min \pm 13.995 min)及插镜深度(经口SBE 235.12 cm \pm 87.831 cm vs DBE 219.94 cm \pm 68.226 cm, 经肛SBE 187.75 cm \pm 67.037 cm vs DBE 172.37 cm \pm 81.808 cm)无统计学差异($P>0.05$), 检出阳性率(经口SBE

■背景资料

目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon enteroscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), SBE与DBE相比, 操作更加简便。

■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

■研发前沿

2007年 Olympus 公司在DBE的基础上研发出SBE, 与DBE相比, SBE镜身前端少了一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便, 目前关于SBE与DBE的临床对比研究还不是很多。

77.05% vs DBE 75.67%, 经肛SBE 70.18% vs DBE 76.77%)及镜下治疗率(经口SBE 46.58% vs DBE 48.85%, 经肛SBE 35.32% vs DBE 33.33%)也未见明显差异($P>0.05$)。

结论: SBE与DBE的性能及疾病诊断率相当, 是一种可靠的小肠镜检查方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 单气囊小肠镜; 双气囊小肠镜; 临床资料

核心内容: 本研究总结了720例次气囊辅助小肠镜检查病例, 单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)511例次、双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)210例, 结果表明, SBE与DBE比较, 检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率未见明显差异。但SBE的镜端灵活、视角大, 操作上更具有优势。

金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞. 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3019-3023 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3019.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3019>

0 引言

小肠是人体最长的器官, 其疾病的临床诊断仍比较困难, 小肠镜技术是诊治小肠疾病的重要手段, 目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), 二者均通过带气囊的外套管辅助进行, 故将其统称为“气囊辅助小肠镜”。2001年日本学者Yamamoto等^[1]率先报道了DBE进行全小肠检查的研究^[2], DBE除了能全肠段检查外, 还能进行活检和镜下治疗。2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出SBE, 与DBE相比, SBE只有外套管一个气囊, 镜身前端少了一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便^[3]。为对比SBE及DBE的临床应用价值, 我们回顾性分析了在我院接受SBE及DBE检查的患者的临床资料。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2007-01/2012-09在我院消化内镜室检查的720例次患者的临床资料(DBE 210例次、SBE 510例次)。器械: Olympus SIF-Q260单气囊小肠镜及FUJINONEN 450P5/28型双气囊小肠镜。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均签署小肠镜检查知情同意书及麻醉同意书。常规检查血常规、凝血功能、肝肾功能、心电图等, 无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌症。患者术前1 d 进食流质饮食, 晚餐后禁食, 并口服蓖麻油40 mL, 饮水500 mL, 第2天上午服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道, 检查结束前不能进食。行小肠镜检查患者均给予丙泊酚静脉麻醉辅助内镜检查。检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg, 并全程行心电监护及氧饱和度监测。分别记录每例次小肠镜检查时间、插镜深度、病变发现率以及是否做镜下治疗及有无并发症。检查时间为进镜时间至退出内镜结束, 其中如有镜下治疗, 则扣除镜下治疗时间。

1.2.2 小肠镜检查: (1)SBE检查 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜。由内镜主机EVIS Lucera系统、奥林巴斯SIF-Q260单气囊小肠镜及外套管、小肠镜专用气囊控制系统及相关附件组成。内镜工作长度200 cm, 外径9.2 mm, 钳道直径2.8 mm, 带气囊的外套管有效长度140 cm, 外径13.2 mm, 内径11 mm, 视角140度。外套管前端装有1个可充气、放气的气囊, 连接于可自动调整充气量的气泵。检查前应先观察外套管头端的气囊有无漏气, 然后将外套管套在小肠镜镜身上, 并注入润滑剂, 将气泵的注气管道与气囊相连, 给气囊充气和放气, 确认气泵工作正常。由两名内镜医师(一名为主要检查者, 另一名为辅助检查者)进行检查及一名麻醉医师配合检查。通过调整镜身角度和外套管反复充气、放气、钩拉、滑行等动作, 将肠管不断地套在SBE镜身上, 直至到达病灶。1个气囊注气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0~-6.5 kPa; 注气时压力为7.0-7.5 kPa。经一端进镜未发现病变者, 内镜抵达相应部位后, 以注射针黏膜下注射美蓝多点标记, 继续另一侧进镜检查; (2)DBE检查: 采用FUJINONEN 450P5/28型双气囊小肠镜。整套内镜操作系统由内镜、主机、外套管和气泵4部分组成。小肠镜镜身长2 m, 外径8.5 mm, 视角120度, 外套管长1.4 m, 气囊压力5.6-8.2 kPa, 工作钳道2.2 mm, 通过工作钳道可完成注气、注水、吸引和活检、注射等操作。估计病变在中上段小肠者选择经口腔途径进镜, 怀疑在中下段小肠病变者选择经肛门途径进镜。由两名内镜医师(一名为主要检查者, 另一名为辅助检查者)及一名麻醉医师配合检查, 共同完成小肠

表 1 单气囊小肠镜和双气囊小肠镜的检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率

	单气囊小肠镜经口	双气囊小肠镜经口	单气囊小肠镜经肛	双气囊小肠镜经肛
检查时间(min)	54.41 ± 11.742	54.94 ± 12.315	64.71 ± 12.359	65.81 ± 13.995
插镜深度(cm)	235.12 ± 87.831	219.94 ± 68.226	187.75 ± 67.037	172.37 ± 81.808
检出阳性率	225/292	84/111	153/218	76/99
镜下治疗率	136/292	52/111	77/218	33/99

镜检查. 通过镜身和外套管依次反复充气、放气、钩拉、滑行等动作, 将肠管不断地套在双气囊电子小肠镜镜身上, 直至到达病灶. 2个气囊充气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0~-6.5 kPa; 充气时压力为7.0-7.5 kPa. 经一端进镜未发现病变者, 内镜抵达相应部位后, 以注射针黏膜下注射美蓝多点标记, 继续另一侧进镜检查.

1.2.3 耐受性与安全性: 患者均能耐受检查, 未发生麻醉意外. 少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状, 无需特殊处理均可自行缓解, 未发生麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症. DBE检查时, 1例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现出血, 另1例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔; SBE检查时, 2例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔; 以上4例患者均及时予以外科手术治疗后治愈.

统计学处理 采用 t 检验比较经口侧及经肛侧检查时SBE组与DBE组的检查时间、插镜深度, 采用 χ^2 检验比较经口侧及经肛侧检查时SBE组与DBE组的检出阳性率(检出阳性率 = 检出病变例数/检查例数 $\times 100\%$)及镜下治疗率(镜下治疗率 = 镜下治疗例数/检查例数 $\times 100\%$), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

720例次小肠镜中, SBE510例次、DBE210例次; 男425例次、女295例. 有298例次行镜下治疗, 主要为镜下息肉圈套摘除及电凝灼除, 病灶钛夹定位, 部分出血患者行镜下注射或电凝止血或以钛夹夹闭出血点, 有2例患者行SBE下异物取出术(1例为假牙、1例为滞留的胶囊), 有2例患者行SBE扩张及支架植入术. 部分小肠镜检查中插镜深度较短是因为存在肠梗阻, 无法进镜. 单气囊及双气囊小肠镜组常见疾病均为: P-J综合征、小肠炎性改变、克罗恩病、小肠溃疡、小肠肿瘤等.

经口侧小肠镜检查403例, 男235例、女168

例, 年龄10-80岁(37.50岁 ± 16.644 岁), SBE292例次, DBE 111例次. 插镜深度: 单气囊10-400 cm, 双气囊5-350 cm. 进镜时间: 单气囊30-90 min, 双气囊28-90 min. 有52例次双气囊小肠镜行镜下治疗, 136例次双气囊小肠镜行镜下治疗.

经肛侧小肠镜317例, 男180例、女137例, 年龄10-78岁(37.63岁 ± 16.749 岁), 其中SBE 218例次、DBE 99例次. 插镜深度: SBE 10-400 cm, DBE 5-350 cm, 进镜时间: SBE 39-98 min、DBE 36-99 min. 有33例次DBE行镜下治疗, 77例次SBE行镜下治疗.

SBE和DBE经口及经肛侧组患者性别及年龄无统计学差异. 分别比较SBE和DBE经口及经肛侧的检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率, 均为 $P > 0.05$, 无统计学差异(表1).

3 讨论

小肠长久以来被认为是内镜检查的盲区, 通过传统的内镜检查方法无法观察到大部分小肠, 胶囊内镜和气囊辅助小肠镜的出现填补了内镜检查小肠的空白. 气囊辅助小肠镜包括DBE和SBE.

胶囊内镜可以观察全小肠, 是一种无痛苦的检查法, 但在体内不能定位、定向, 不能做活检及治疗, 不能保证被排出体外而且图像不够清晰, 限制了他的临床应用^[4]. DBE图像清晰, 操作精确, 发现病变可以取活检、做标记, 并且可以行治疗, 是一种可靠的诊治手段. SBE是在DBE的基础上改进而来的, 同样具有图像清晰、操作精确, 可镜下治疗等优点, 从操作原理上看, DBE通过气囊固定肠腔, 而SBE通过镜身前端成角勾住肠管, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势^[5]. DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能^[6], 而SBE则一般不会出错, 这使得其操作更简便. 由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间^[7].

本研究总结了720例次气囊辅助小肠镜检查

■应用要点

相对于DBE, SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面, 并不处于劣势, 而SBE在准备时间、操作性能力方面明显优于DBE, 具有较好的临床应用价值, 是一种安全、可靠的小肠检查手段.

■同行评价

本文具有一定的新颖性,且样本量较大,与以往文献相比,对SBE的评价更加全面,提高了其可信度。

病例(SBE 511例次、DBE 210例次)的结果表明,SBE与DBE比较,检查时间及插镜深度无统计学差异,检出阳性率及镜下治疗率也未见明显差异。DBE下可开展的治疗种类,如息肉圈套摘除及电凝灼除、钛夹定位、电凝止血或以钛夹夹闭出血点、异物取出术、狭窄肠腔的扩张及支架植入术等,在SBE下也可进行,且镜端灵活、视角大,操作上更具有优势。

目前国内外关于SBE的研究报道还不是很多,得出了与我们相似的结论。马丽黎等^[8]在35例次SBE检查中,经口进镜检查平均用时49.7 min,经肛48.6 min,疾病检出率为86.7%。陈白莉等^[9]回顾分析83例SBE检查患者的临床资料,经口进镜检查平均操作时间为29.6 min,经肛进镜为57.1 min,病变检出率为68.7%。任玮等^[7]将50例患者随机分组进行60例次小肠镜检查,对比SBE与DBE的临床资料,得出结论,SBE在准备时间、操作方面明显优于DBE,但在检查时间、插镜深度、病变发现率方面无明显差异。李运红等^[10]应用SBE对72例不明原因消化系出血的患者进行检查,62.5%的患者发现足以解释患者出血原因的小肠病变,认为SBE对于不明原因消化道出血的检查是安全、有效的。Gong等^[11]对怀疑小肠疾病而接受SBE共67例患者进行回顾性分析,经口侧的平均进镜时间为68.1 min,经肛侧为77.5 min,进镜深度经口侧为247.6 cm,经肛侧为131.1 cm,疾病诊断率为68.7%。

多中心前瞻性研究比较DBE和SBE技术在小肠疾病患者100例中的应用,结果显示在检查前准备时间和经口操作时间上SBE占优,而全小肠检查完成率上则DBE占优势^[12]。Efthymiou等^[13]对53例次SBE及66例次DBE进行分析,认为在插镜深度及进镜时间上二者并无统计学差异。Manno等^[14]在111例患者的SBE检查中,平均手术时间为经口侧61 min±33 min,经肛侧78 min±41 min,平均插入深度为经口侧超过屈氏韧带223 cm±93 cm,经肛侧超过回盲瓣96 cm±56 cm。Kushnir等^[15]对147例行SBE的不明原因的消化道出血患者进行回顾性分析,疾病诊断率为64.6%。Lenz等^[16]对904例患者进行分析,其中1052例次行DBE、515例次行SBE,数据显示SBE相对于DBE,其插入深度较低,但诊断率比较高。

总之,以上研究与我们的研究结论相似,均认为SBE是一种安全、可靠的小肠检查手段。

且大部分研究认为,相对于DBE,SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面,并不处于劣势,而SBE在准备时间、操作性能方面明显优于DBE,具有较好的临床应用价值。

4 参考文献

- 1 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- 2 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]
- 3 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]
- 4 Ell C, May A. Capsule status 2004: what is the outcome in bleeding? Are there really additional indications? *Endoscopy* 2004; 36: 1107-1108 [PMID: 15578304 DOI: 10.1055/s-2004-826082]
- 5 Manno M, Barbera C, Bertani H, Manta R, Mirante VG, Dabizzi E, Caruso A, Pigo F, Olivetti G, Conigliaro R. Single balloon enteroscopy: Technical aspects and clinical applications. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 28-32 [PMID: 22347529 DOI: 10.4253/wjge.v4.i2.28]
- 6 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]
- 7 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. *中国基层医药* 2011; 18: 1653-1655
- 8 马丽黎, 陈世耀, 秦文政, 胡健卫, 徐关东, 钟芸诗, 张铁群, 陈巍峰, 姚礼庆. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 399-401
- 9 陈白莉, 熊理守, 高翔, 王锦辉, 张宁, 崔毅. 单气囊小肠镜诊治小肠疾病的安全性及其临床价值观察. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 134-137
- 10 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2012; 9: 510-512
- 11 Gong W, Zhi FC, Bai Y, Xiao B, De Liu S, Xu ZM, Jiang B. Single-balloon enteroscopy for small bowel diseases: results from an initial experience at a single Chinese center. *J Dig Dis* 2012; 13: 609-613 [PMID: 23134075 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00642.x]
- 12 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]
- 13 Efthymiou M, Desmond PV, Brown G, La Nauze R, Kaffes A, Chua TJ, Taylor AC. SINGLE-01: a randomized, controlled trial comparing the efficacy

- and depth of insertion of single- and double-balloon enteroscopy by using a novel method to determine insertion depth. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 972-980 [PMID: 22980289 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.033]
- 14 Manno M, Riccioni ME, Cannizzaro R, Andreoli A, Marmo R, Pennazio M. Diagnostic and therapeutic yield of single balloon enteroscopy in patients with suspected small-bowel disease: results of the Italian multicentre study. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 211-215 [PMID: 23157975]
- 15 Kushnir VM, Tang M, Goodwin J, Hollander TG, Hovis CE, Murad FM, Mullady DK, Azar RR, Jonnalagadda SS, Early DS, Edmundowicz SA, Chen CH. Long-term outcomes after single-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2572-2579 [PMID: 23430372 DOI: 10.1007/s10620-013-2588-y]
- 16 Lenz P, Roggel M, Domagk D. Double- vs. single-balloon enteroscopy: single center experience with emphasis on procedural performance. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1239-1246 [PMID: 23503664 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181e85b3d]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估

李 铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶 博, 张 鹏, 刘庆良

■背景资料

急腹症是外科最常见也是最复杂容易引起误诊的疾病。ALVARADO评分系统在欧美曾广泛应用于外科急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断,但其准确性和特异性目前国内外同行的文章中仍然有争议。腹腔镜技术和影像学技术的进步对急腹症的诊断的影响,尚未有太多文献报道。

李铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良, 航天中心医院, 北京大学航天临床医学院微创胃肠外科 北京市 100049

李铎, 主要从事普通外科的临床工作。

作者贡献分布: 此课题由李铎与康春博设计; 研究过程由刘金洪与康春博负责具体入组患者管理; 论文撰写由李铎完成; 康春博校阅; 陈秀峰、李旭斌、林大鹏、李小伟、叶博、张鹏及刘庆良参与临床研究表格填写、患者的管理、术后随访和病例统计。

通讯作者: 康春博, 副教授, 100049, 北京市海淀区玉泉路15号, 航天中心医院, 北京大学航天临床医学院微创胃肠外科。

chunbokang@163.com

电话: 010-59972007 传真: 010-59972008

收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-15

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration

Duo Li, Jin-Hong Liu, Chun-Bo Kang, Xiu-Feng Chen, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Xiao-Wei Li, Bo Ye, Peng Zhang, Qing-Liang Liu

Duo Li, Jin-Hong Liu, Chun-Bo Kang, Xiu-Feng Chen, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Xiao-Wei Li, Bo Ye, Peng Zhang, Qing-Liang Liu, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, Beijing 100049, China
Correspondence to: Chun-Bo Kang, Associate Professor, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, 15 Yuquan Road, Haidian District, Beijing 100049, China. chunbokang@163.com

Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-15

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To re-evaluate the Alvarado score in the diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration.

METHODS: Clinical data for 210 patients with acute appendicitis who underwent transumbilical single-port laparoscopic exploration and Alvarado scoring were retrospectively reviewed. The correlation between Alvarado score and operative outcome was analyzed.

RESULTS: 101 had an Alvarado score above 9,

of whom appendicitis was excluded by exploration in only 2 cases, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 98.1% in these patients. 85 patients had an Alvarado score between 7 and 8, of whom 74 were confirmed to have acute appendicitis by exploration, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 87.1% in these patients. Of 24 patients who had a positive CT or ultrasound finding and an Alvarado score between 5 and 6, 23 were confirmed to have acute appendicitis, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 95.8% in these patients. No port-site hernia or constipation was found during a follow-up period of 1 year.

CONCLUSION: Alvarado score is useful in the diagnosis of acute appendicitis, especially when the score is above 9. When the score is between 7 and 8, there is a false positive rate as high as 13% if the Alvarado system is used alone. Alvarado scoring combined with imaging examination is associated with a higher accuracy in the diagnosis of acute appendicitis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Transumbilical endoscopic surgery; Acute appendicitis; Alvarado score

Li D, Liu JH, Kang CB, Chen XF, Li XB, Lin DP, Li XW, Ye B, Zhang P, Liu QL. Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3024-3029 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3024.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3024>

摘要

目的: 通过经脐单孔腹腔镜探查, 再进行评估ALVARADO评分系统在急腹症诊疗中的价值。

方法: 对210例急腹症患者应用ALVARADO评分系统评估后进行经脐单孔腹腔镜探查术, 根据探查结果与ALVARADO评分系统对应分析, 术后追踪随访1年。

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

结果: 101例ALVARADO评分9分以上, 只有2例为非阑尾炎急腹症, 准确率为98.1%, 85例评分7-8分, 74例为阑尾炎, 准确率为87.1%; 24例5-6分加阳性的超声或CT结果的患者, 23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为95.8%。

结论: ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值。但7分以下仍然有一定的假阳性率。应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性; 对急腹症患者应用经脐单孔腹腔镜技术早期探查, 可减少诊断和治疗的延误, 对于非阑尾炎急腹症不影响后续的外科治疗, 安全可行。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: ALVARADO评分; 急性阑尾炎; 经脐单孔腹腔镜

核心提示: 本研究是通过经脐单孔腹腔镜探查, 所有病例均获得最终的准确诊断, 从而能够获得精确的ALVARADO评分结果。本组病例中包含低于7分以下的病例, 最终通过经脐单孔腹腔镜探查确诊为急性阑尾炎。提醒同道对于不典型病例结合影像学检查的重要性和必要性。

李铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良. 应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3024-3029 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3024.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3024>

0 引言

急腹症是外科最常见也是最复杂容易引起误诊的疾病。据统计, 因急性腹痛就诊的患者约占急诊患者的7%^[1]。由于发病急, 早期的腹痛很难与内科疾病鉴别; 急性腹痛引起的误诊约占医疗纠纷的10%左右^[2]。及时准确的诊断和外科手术治疗非常重要。急性阑尾炎是外科常见的急腹症之一。文献报道, 在临床诊断急性阑尾炎而行阑尾切除的病例中, 有15%-40%病例切除的是正常阑尾(阴性阑尾切除), ALVARADO评分系统在欧美曾广泛应用于外科急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断^[3], 但很多单位报导其准确性和特异性有很大差异^[4,5]。随着微创外科技术的成熟和发展, 诊断性的腹腔镜探查对于提高确诊率, 减少病情延误有重要价值^[6]。通过人体自然腔道手术进一步将切口置于人体隐蔽部位, 基本可以做到“无瘢痕”, 更容易为患者接受。我院微创

胃肠外科从2011-01开展了成人经脐单孔腹腔镜急腹症诊断性探查术^[7], 现结合ALVARADO评分系统, 以再评估ALVARADO评分系统对于成人急性阑尾炎诊断的价值。

1 材料和方法

1.1 材料 对2011-01/2012-04以急性腹痛就诊的患者, 应用ALVARADO评分系统评估, 评分方法如表1, 所有评分中的体征和症状经3位不同级别医师确定, 7分或7分以上或者5-6分患者有阳性的超声或CT报告行经脐单孔腹腔镜探查, 共探查210例。

1.2 方法 探查方法详见参考文献^[7], 为非气腹针入腹, 经脐纵行切口15 mm, 置入硅胶切口保护套后送入腹腔镜Trocarr并开始注气, 探查腹腔。若为阑尾病变, 系膜较长时, 直接用抓钳经切口保护套提出, 体外结扎切除阑尾。若为其他病变, 采用相应的其他治疗措施。根据术后病检结果, 将所有病例分为急性单纯性阑尾炎、急性化脓性阑尾炎和急性坏疽穿孔性阑尾炎, 分别计算3种类型患者的评分, 对评分结果和病理分型进行相关分析。并通过术后病理结果比较评分9分或9分以上, 7分或7分以上, 5-6分患者的阴性阑尾切除率; 计算评分的准确率、特异性及阳性预测率; 并于术后6 mo追踪调查美容指数和自身感知指数, 了解单孔腹腔镜探查对患者生活质量的影响^[8]。评分4分或4分以下患者, 未入组行单孔腹腔镜探查, 这部分患者均在门诊治疗。

2 结果

本组210例, 男60例, 女40例。平均年龄为36.40岁±16.13岁(中位年龄33岁, 范围16-75岁)体质量指数(body mass index, BMI)平均为24.40 kg/m²±6.45 kg/m²(中位数24 kg/m², 范围17-36 kg/m²)。入院前腹痛时间平均为34.59 h±27.80 h(中位数24 h, 范围8-120 h), 术前83/100例白细胞升高, WBC计数平均为12.57×10⁹/L±3.75×10⁹/L(中位数12.87×10⁹/L, 范围3.94×10⁹-20.27×10⁹/L, 正常值4-10×10⁹/L)、术前中性白细胞分类(正常值50%-70%)为78.78%±10.81%(中位数80.65%, 范围43.7%-92.5%。100例均超过正常值, 正常值50%-70%)(表2)。

101例ALVARADO评分9分以上, 只有2例为非阑尾炎急腹症, 阳性预测值即准确率为98.1%, 85例评分7-8分, 74例为阑尾炎, 阳性预测值为87.1%; 5-6分加阳性的超声或CT结果的患者24例, 其中23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为

■创新盘点

经脐单孔腹腔镜探查技术, 基本不留可视的瘢痕, 探查的指针可以适度放宽。也使我们获得了低ALVARADO评分的临床最终诊断结果。通过评估210例单孔腹腔镜探查获得最终确定诊断的患者的结果表明: ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值; 但7分以下仍然有一定的假阳性率, 应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性。

■应用要点

经脐单孔腹腔镜技术早期探查,减少了诊断和治疗的延误,对于非阑尾炎急腹症不影响后续的外科治疗,相信能够提高急腹症的准确诊断率和治愈率,并将极大提高外科急腹症患者术后的生存质量。

表 1 改良Alvarado评分系统 (n)

项目/分值	有	无
转移性(右下腹)疼痛	1	0
纳差	1	0
呕吐	1	0
(右下腹)压痛	2	0
反跳痛	1	0
发热	1	0
白细胞增多	2	0
核左移	1	0
合计	10	0

Alvarado推荐: 总分: 3-4分 = 不能诊断阑尾炎; 5-6分 = 疑诊阑尾炎; ≥7分 = 确诊阑尾炎。

表 2 入组210患者的临床资料

项目	mean ± SD	中位数(范围)
男/女比例	60 : 40	
年龄(岁)	36.40 ± 16.13	33(16-75)
身体代谢指数(kg/m ²)	24.40 ± 6.45	24/(17-36)
入院前腹痛时间(h)	34.59 ± 27.80	24(8-120)
术前 WBC 计数(× 10 ⁹ /L, 正常值4-10)	12.57 ± 3.75	12.87(3.94-20.27)
术前中性粒细胞分类(%, 正常值50-70)	78.78 ± 10.81	80.65(43.7-92.5)

95.8%(表3)。同期在急诊科就诊腹痛患者评分4分或4分以下有89例患者,未入组行单孔腹腔镜探查,这部分患者均在门诊治疗,失访13例,76随访,12 mo未有腹痛再次发作,视为非阑尾炎患者。

196例急性阑尾炎,其中170例经脐提出阑尾切除,8例因阑尾系膜短行单孔腹腔镜内切除;15例因为阑尾坏疽,局部炎症重或腹膜后位阑尾,需要耻骨上置入5 mm Trocar完成手术。2例中转开腹。手术时间平均为38.13 min ± 14.77 min,术中出血平均为3.26 mL ± 6.18 mL,病理:急性化脓性阑尾炎79例,单纯性阑尾炎54例,阑尾穿孔15例,坏疽性阑尾炎9例。术后6 mo随访患者生活质量良好,无腹痛、发热,脐部伤口美容效果良好。ALVARADO评分与阑尾炎症的严重程度无关(表4)。

14例非阑尾炎病例中,3例女性盆腔感染经脐单孔行盆腹腔灌洗术后治愈出院,2例为炎性肠病,2例术中发现腹腔内有乳糜样积液,其中1例为自发性乳糜腹膜炎,经钛夹夹闭渗漏淋巴管和腹腔冲洗后治愈,另1例为空肠系膜淋巴管

表 3 入组患者不同Alvarado评分与术后诊断结果 (n)

Alvarado评分	急性阑尾炎	非急性阑尾炎
9分或9分以上	99	2
7-8分	74	11
5-6分加阳性超声或CT结果	23	1
4分或4分以下	0 ¹	76 ¹

¹4分或4分以下病例未行进一步的影像学检查和单孔腹腔镜探查,76例随访12 mo无腹痛再发作,视为非阑尾炎病例。

瘤,中转开腹切除;2例上消化道穿孔,其中1例经脐单孔行修补术,1例从右上腹置入5 mm Trocar完成修补术;1例出血性小肠炎,经脐提出行回肠切除空肠造瘘术;1例卵巢囊肿蒂扭转,经脐单孔行卵巢囊肿切除术,1例阑尾黏液瘤,1例回盲部癌分别行经脐单孔腹腔镜回盲部及右半结肠切除术。1例因下腹局部肠粘连,行经脐单孔行粘连松解术。

术后并发症:有6例合并脐部浆液性溢液,经7-14 d换药后愈合,2例合并术后肠麻痹,经胃肠减压和延迟进食1 wk内恢复。术后随访12 mo,所有患者均无脐切口疝(表5)。

术后6 mo调查身体自我感知指数和美容指数分别为6.89 ± 2.24和20.25 ± 2.51(表6)。

3 讨论

急性腹痛一直是临床常见的病症,如阑尾炎、消化系穿孔、肠梗阻等,其发病急,病情变化快,要求医生在短期内做出准确诊断和判断。延误手术治疗将造成严重的后果。但短期内准确定位病变器官非常困难。过去行开腹手术,需要很大的探查切口。即使这样,如果病灶远离切口的部位,将造成手术的极大困难,往往需要再做一个切口或做一个与该病极不相符的手术切口。这也是临床医生决定急腹症手术时机困难的原因之一。腹腔镜技术近年来发展很快,电视清晰度的增高及越来越多专用器械得到发明,使其在腹部外科领域的应用愈加广泛。从循证医学和Meta分析表明,对于有丰富经验的外科医师,腹腔镜急腹症探查技术上是安全可行的^[9]。通过经脐单孔腹腔镜诊断性探查,也使我们有机会进一步评价临床上的评分系统在诊断急性阑尾炎中的价值。

临床上有许多评分系统用来帮助临床医师诊断急性阑尾炎。其中,Alvarado在1986年设计

■同行评价

文章研究内容切合临床, 资料翔实, 方法科学, 具有一定指导意义。

表 4 入组210例患者的术后诊断结果与Alvarado评分

	发病率n(%)	Alvarado评分	
		mean ± SD	中位数(范围)
单纯性阑尾炎	62(30)	7.17 ± 2.20	7(5-10)
化脓性阑尾炎	85(38)	8.10 ± 3.10	8(5-10)
阑尾穿孔	28(11)	8.85 ± 3.08	9(5-10)
坏疽性阑尾炎	21(10)	8.50 ± 3.40	8(5-10)
其他急腹症	14(6.6)		
盆腔感染	3	8、8、7	
溃疡病穿孔	2	8、7	
克罗恩氏病	2	8、7	
局限小肠粘连, 肠梗阻	1	7	
出血性小肠炎	1	7	
卵巢囊肿蒂扭转	1	7	
原发性刺激性腹膜炎	1	8	
空肠系膜淋巴管瘤	1	7	
阑尾粘液瘤	1	9	
回盲部癌	1	9	
合计	210		

表 5 210例入组患者的手术结果

	mean ± SD	中位数(范围)
手术时间(min)	38.13 ± 14.77	35(15-95)
住院时间(d)	54.80 ± 31.99	42(24-144)
术后疼痛时间	3.17 ± 1.20	3(1-6)
术后并发症		
脐部浆液性溢液	3	
术后肠麻痹	2	

表 6 术后6 mo患者身体自我感知指数和美容指数

	经脐单孔腹腔镜探查
n	210
身体自我感知指数	
mean ± SD	6.89 ± 2.24
中位数(范围)	6(5-13)
美容指数	
mean ± SD	20.25 ± 2.51
中位数(范围)	21(15-24)

了ALVARADO评分系统^[3], 后来由Kalan等予以改良。改良后的ALVARADO评分基于病史、体检及几个常用实验室检查设计的从0到10分的评分系统, 以便急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断。理论上讲, 越高的ALVARADO评分, 阑尾炎的可能性越大, 越低的评分, 阑尾炎的可能性越小。国内徐林等统计1637例阑尾切除患者^[10], 评

分>7分患者阴性阑尾切除率为6.2%, 远低于评分<7分患者(15.5%), 拟诊为急性阑尾炎同时评分≥7分的患者, 阳性预测率为93.8%。我们结合经脐单孔腹腔镜探查技术, 再评估ALVARADO评分系统的价值。

在我们的病例中, ALVARADO评分9分以上, 准确率为98.1%, 但7-8分的病例中, 有11例为其他疾病, 准确率为87.1%; 24例5-6分加阳性的超声或CT结果的患者, 23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为95.8%。McKay和Shepherd行Meta分析了150篇文献^[11], 其中ALVARADO评分3分以下的患者中, 约有5% CT检查证实为急性阑尾炎, 约有36%的患者ALVARADO评分4-6分, 最终证实为急性阑尾炎。ALVARADO评分7分或7分以上的患者中, 78%证实为急性阑尾炎, 仍然有22%的假阴性率。作者的结论为ALVARADO评分3分以下, 可以不用进一步影像学检查; 评分4-6分之间推荐进一步影像学检查。7分或7分以上的患者直接推荐外科手术治疗。Chan等另外一组患者的分析, ALVARADO评分5分以下者, 基本没有阑尾炎的患者^[12]。但Yildirim等报告ALVARADO评分1-4分而CT结果为阳性的患者中, 约72%最终被证实为阑尾炎。因此, 推荐即使ALVARADO评分低的患者, 也应该再次行CT检查排除^[13]。Gwynn报导143例最终确诊为阑尾炎的患者中, 12(8.4%) ALVARADO评分<5分^[14]。表明术前影像学检查的重要价值, 最近有多家报

导前瞻性研究中, CT检查可以将阴性阑尾切除率降低4%-8%^[15,16].

我们的临床资料也表明, 对于ALVARADO评分低于9分的患者, 如果能够结合CT和B超等影像学检查, 将极大提高诊断准确率.

本组病例均为ALVARADO评分系统超过4分以上拟诊为阑尾炎的病例, 其中有14例术前无法确定、排除急性阑尾炎的病例, 通过腹腔镜探查得以明确诊断并得到及时治疗, 分别有: 上消化道穿孔、右侧卵巢囊肿蒂扭转、局限性小肠粘连、出血坏死性小肠炎, 并发现2例罕见的乳糜性腹膜炎. 对于盆腔感染, 通过腹腔镜引导下行腹腔灌洗和引流, 明显缩短病程, 减少术后不孕的机率. 我们的资料显示, 86%(12/14)的非阑尾炎外科急腹症可以通过经济的单孔腹腔镜完成外科操作, 其余的病例也仅需要从其他部位加1-2个5 mm Trocar. 所有病例均得到及时的治疗而无严重并发症. 这些患者均未出现手术并发症, 全部治愈后康复出院. 证实经济单孔腹腔镜探查的安全性和可行性. 经济单孔腹腔镜下阑尾切除术, 在一组儿童病例中, 也被证明无论是在安全还是在经济角度, 优于常规腹腔镜下阑尾切除术^[17].

诊断性腹腔镜探查是能够最终确证阑尾病变的手段, 最近的文献报道阴性切除率高达12%-18%^[18], 本组患者中经济单孔腹腔镜探查非阑尾病变为6.6%, 表明结合ALVARADO评分系统可以显著降低阴性探查率.

总之, ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值. 但仍然有一定的假阳性率. 应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性. 必要时结合经济单孔腹腔镜技术进行早期探查, 减少了诊断和治疗的延误, 即使非阑尾炎急腹症, 也不影响后续的外科治疗. 从本单位的经验和以上临床资料, 我们推荐ALVARADO评分9分以上者, 可以直接手术探查; 对于7-8分的患者行单孔腹腔镜探查, 4-6分的患者应结合B超和CT检查并动态观察.

4 参考文献

- Macaluso CR, McNamara RM. Evaluation and management of acute abdominal pain in the emergency department. *Int J Gen Med* 2012; 5: 789-797 [PMID: 23055768 DOI: 10.2147/IJGM.S25936]
- Howell JM, Eddy OL, Lukens TW, Thiessen ME, Weingart SD, Decker WW. Clinical policy: Critical issues in the evaluation and management of emergency department patients with suspected ap-

- pendicitis. *Ann Emerg Med* 2010; 55: 71-116 [PMID: 20116016 DOI: 10.1016/j.annemergmed.2009.10.004]
- Alvarado A. A practical score for the early diagnosis of acute appendicitis. *Ann Emerg Med* 1986; 15: 557-564 [PMID: 3963537 DOI: 10.1016/S0196-0644(86)80993-3]
- Talwar S, Talwar R, Prasad P. Continuing diagnostic challenge of acute appendicitis: evaluation through modified alvarado score: comment. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 821-822 [PMID: 10553974 DOI: 10.1046/j.1440-1622.1999.01703.x]
- Kalan M, Talbot D, Cunliffe WJ, Rich AJ. Evaluation of the modified Alvarado score in the diagnosis of acute appendicitis: a prospective study. *Ann R Coll Surg Engl* 1994; 76: 418-419 [PMID: 7702329]
- Sauerland S, Agresta F, Bergamaschi R, Borzellino G, Budzynski A, Champault G, Fingerhut A, Isla A, Johansson M, Lundorff P, Navez B, Saad S, Neugebauer EA. Laparoscopy for abdominal emergencies: evidence-based guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery. *Surg Endosc* 2006; 20: 14-29 [PMID: 16247571 DOI: 10.1007/s00464-005-0564-0]
- 李铎, 刘金洪, 康春博, 李爱民, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 王立敏, 王佳慧. 经济单孔腹腔镜急腹症探查术的单一中心回顾性分析. *中国微创外科杂志* 2013; 13: 127-130
- Dunker MS, Bemelman WA, Slors JF, van Duijvendijk P, Gouma DJ. Functional outcome, quality of life, body image, and cosmesis in patients after laparoscopic-assisted and conventional restorative proctocolectomy: a comparative study. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1800-1807 [PMID: 11742165 DOI: 10.1007/BF02234458]
- Stefanidis D, Richardson WS, Chang L, Earle DB, Fanelli RD. The role of diagnostic laparoscopy for acute abdominal conditions: an evidence-based review. *Surg Endosc* 2009; 23: 16-23 [PMID: 18814014 DOI: 10.1007/s00464-008-0103-x]
- 徐林, 邵永胜, 彭开勤, 许涛, 张应天. 改良ALVARADO评分对急性阑尾炎的诊断价值分析. *临床外科杂志* 2011; 19: 244-245
- McKay R, Shepherd J. The use of the clinical scoring system by Alvarado in the decision to perform computed tomography for acute appendicitis in the ED. *Am J Emerg Med* 2007; 25: 489-493 [PMID: 17543650 DOI: 10.1016/j.ajem.2006.08.020]
- Chan MY, Tan C, Chiu MT, Ng YY. Alvarado score: an admission criterion in patients with right iliac fossa pain. *Surgeon* 2003; 1: 39-41 [PMID: 15568423 DOI: 10.1016/S1479-666X(03)80007-0]
- Yildirim E, Karagülle E, Kirbaş I, Türk E, Hasdoğan B, Tekşam M, Coşkun M. Alvarado scores and pain onset in relation to multislice CT findings in acute appendicitis. *Diagn Interv Radiol* 2008; 14: 14-18 [PMID: 18306139]
- Gwynn LK. The diagnosis of acute appendicitis: clinical assessment versus computed tomography evaluation. *J Emerg Med* 2001; 21: 119-123 [PMID: 11489398]
- Pickhardt PJ, Lawrence EM, Pooler BD, Bruce RJ. Diagnostic performance of multidetector computed tomography for suspected acute appendicitis. *Ann Intern Med* 2011; 154: 789-796, W-291 [PMID: 21690593 DOI: 10.7326/0003-4819-154-12-201106210-00006]
- Kim K, Kim YH, Kim SY, Kim S, Lee YJ, Kim KP,

- Lee HS, Ahn S, Kim T, Hwang SS, Song KJ, Kang SB, Kim DW, Park SH, Lee KH. Low-dose abdominal CT for evaluating suspected appendicitis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1596-1605 [PMID: 22533576 DOI: 10.1056/NEJMoa1110734]
- 17 Visnjic S. Transumbilical laparoscopically assisted appendectomy in children: high-tech low-budget surgery. *Surg Endosc* 2008; 22: 1667-1671 [PMID: 18074182]
- 18 Hamminga JT, Hofker HS, Broens PM, Kluin PM, Heineman E, Haveman JW. Evaluation of the appendix during diagnostic laparoscopy, the laparoscopic appendicitis score: a pilot study. *Surg Endosc* 2013; 27: 1594-1600 [PMID: 23073690]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析

叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋

■背景资料

结直肠癌是人类常见的恶性肿瘤, 目前其病因及发病机制尚不明确, 其发生可能与环境及饮食习惯、感染等多种因素相关。脂联素的功能基因多态性可能影响脂类代谢、肥胖等, 最终改变其罹患结直肠癌的风险。

叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

叶春翠, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

叶春翠, 主要从事消化系统肿瘤的防治。

作者贡献分布: 此课题由谭诗云设计; 叶春翠与孙朋负责资料收集、分析研究; 数据分析由李明与张军完成; 本论文写作由叶春翠与王军完成; 谭诗云审阅。

通讯作者: 谭诗云, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路238号, 武汉大学人民医院消化内科。tanshiyun@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-06-08 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis

Chun-Cui Ye, Shi-Yun Tan, Jun Wang, Ming Li, Jun Zhang, Peng Sun

Chun-Cui Ye, Shi-Yun Tan, Jun Wang, Ming Li, Jun Zhang, Peng Sun, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Shi-Yun Tan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. tanshiyun@medmail.com.cn

Received: 2013-06-08 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the association between adiponectin (ADIPOQ) gene polymorphisms and risk of colorectal cancer (CRC).

METHODS: All eligible case-control studies published up to March 2013 were identified by searching PubMed, Web of Science, CNKI, Wanfang and VIP. Effect sizes of odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI) were calculated by using a fixed- or random-effect model.

RESULTS: A total of 9 case-control studies were included. There were eight studies (2024 cases and 2777 controls) for rs1501299G/T polymorphism, five studies (1401 cases and 1691

controls) for rs2241766T/G polymorphism and five studies (2945 cases and 3361 controls) for rs266729C/G polymorphism. Overall, a significant association was observed for rs2241766T/G polymorphism under heterozygote comparison (TG vs TT: OR = 1.22, 95%CI: 1.05-1.43), while there was no significant association for rs2241766 polymorphism under other genetic models, and for other two polymorphisms under all genetic models.

CONCLUSION: Our meta-analysis indicates that adiponectin rs2241766T/G polymorphism, rather than rs1501299G/T and rs266729C/G polymorphisms, is associated with the risk of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adiponectin; Colorectal cancer; Polymorphism; Meta-analysis

Ye CC, Tan SY, Wang J, Li M, Zhang J, Sun P. Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3030-3036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3030.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3030>

摘要

目的: 探讨脂联素rs1501299G/T、rs2241766T/G、rs266729C/G基因多态性与结直肠癌风险的相关性。

方法: 计算机检索PubMed、Web of Science、中国知网(CNKI)、万方、维普数据库, 检索时间建库截至2013-03, 收集关于脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的病例对照研究。由2名评价者按照纳入和排除标准独立选择文献、提取资料、评价质量, 采用RevMan5.1和Stata12.0软件进行Meta分析。

结果: 最终纳入9个病例-对照研究, 其中rs1501299G/T基因多态性相关文献7篇(包括8项研究), 共有2024例结肠癌患者, 2777

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

名对照组; rs2241766T/G基因多态性相关文献5篇, 共有1401例结肠癌患者, 1691例对照组; rs266729C/G基因多态性相关文献5篇, 共有2945例结肠癌患者, 3361例对照组. rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌关联性的研究中, 在TG vs TT遗传模型, 该位点的基因多态性与结直肠癌的易感性有关联($OR = 1.22$, $95\%CI: 1.05-1.43$). 而在其他两种基因多态性的研究中, 四种遗传模型均未发现存在相关性.

结论: 脂联素rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌发病的风险有关, 而rs1501299G/T, rs266729C/G基因多态性与结直肠癌易感性无明显关联.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脂联素; 结直肠癌; 基因多态性; Meta分析

核心提示: 相同的基因位点, 不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关. 本文将脂联素3个常见位点(rs1501299G/T, rs2241766T/G, rs266729C/G)与结直肠癌的功能基因多态性文章进行荟萃分析, 为以后的科研和临床研究提供一定的思路.

叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋. 脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3030-3036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3030.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3030>

0 引言

结直肠癌是常见的消化系肿瘤之一, 全球范围内, 分别居男性发病率和死亡率的第3和第4位; 居女性的第2和第3位, 且呈逐年上升趋势^[1]. 流行病学研究发现, 肥胖、胰岛素抵抗等因素及遗传和环境因素的交互作用在结直肠癌发病机制中起重要作用^[2,3].

脂联素是脂肪组织特异性细胞因子, 在调节胰岛素敏感性、葡萄糖平衡和脂类代谢等起重要作用^[4], 血浆脂联素下降水平与肥胖、2型糖尿病和冠状动脉疾病有关^[5]. 此外, 在结直肠癌患者中也发现脂联素水平降低, 提示脂联素与结直肠癌的发病有关. 编码脂联素的基因(ADIPOQ), *Adiponectin*位于染色体3q27上, 包含3个外显子和2个内含子^[6]. 脂联素基因多态性与结直肠癌风险的相关性已被大量研究, 其中3个多态性位点研究较多: 位于内含

子区的rs1501299(+276G>T), 位于外显子区的rs2241766(+45T>G)和位于5'末端的rs266729(-11365C>G), 然而结论不尽相同^[7-15]. 本研究综合评价不同人群脂联素基因中3个基因多态性与结直肠癌风险性的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 文献检索英文以adiponectin、ADIPOQ、APM1、genetic polymorphism、polymorphisms、variant、colorectal cancer、carcinoma为搜索关键词, 搜索Pubmed、Web of Science等数据库; 中文以脂联素、ADIPOQ、APM1、基因多态性、结直肠癌为搜索关键词, 搜索中国知网(CNKI)、万方、维普等数据库, 检索时间均为建库至2013-03, 无语种限制. 同时辅以文献追溯.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)关于脂联素基因多态性与结直肠癌易感性关系的研究; (2)为病例-对照研究; (3)文献中数据完整, 或者能直接或间接提供统计指标OR及95%CI.

1.2.2 排除标准: (1)单纯病例研究、病例报道、综述、评论等文献; (2)重复发表且信息不全的文献; (3)研究对象不是人类.

1.2.3 资料提取: 由两位研究者独立进行文献筛选和资料提取, 意见不一致时通过讨论解决或由第三位研究者协助解决. 资料提取内容包括: 作者、发表年份、国家、种族、调查组和对照组总数及各基因型分布情况以及对照组H-W平衡检验值(P 值)($P < 0.05$ 认为不符合H-W平衡规律), 如表1.

统计学处理 采用Cochrane协作网的Rev-Man5.1和Stata12.0软件进行分析. 合并效应量选用比值比(OR)及其95%CI. 对纳入研究进行异质性检验(采用Q检验和 I^2 统计量)^[16], 如 $P > 0.1$ 或 $I^2 < 50\%$ 提示各研究间无异质性, 采用固定效应模型进行合并分析^[17], 反之则采用随机效应模型^[18]. 敏感性分析为依次排除单个文献后重新进行Meta分析, 估计综合效应大小. 发表偏倚通过Begg秩相关法^[19]、Egger回归法^[20]进行量化检测($P < 0.05$ 认为存在发表偏倚). 利用在线软件(<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>)进行Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡的计算, 检验水准0.05.

2 结果

2.1 文献检索结果 通过检索共找到相关文献71

■研究前沿

脂联素作为脂肪组织特异性的细胞因子, 在调节胰岛素敏感性、脂类代谢等方面起重要作用, 研究证实其与肥胖、2型糖尿病等疾病密切相关.

■ 相关报道

An等的1篇关于脂联素水平与结直肠癌及腺瘤风险Meta分析, 纳入了2632例结肠癌患者和2753例对照, 结果显示在结肠癌患者中脂联素水平较对照组低, 提示脂联素可能是结直肠癌的一个保护因素。

表 1 纳入文献的基本情况(n)

文献	年份	国家	种族	病例组			对照组			P_{HWE}
				野生纯合子	杂合子	突变纯合子	野生纯合子	杂合子	突变纯合子	
rs1501299G/T				GG	GT	TT	GG	GT	TT	
Al-Harithy等 ^[7]	2012	沙特阿拉伯	亚洲人	55	5 ^a		58	2 ^a		NA
He等 ^[9]	2011	中国	亚洲人	220	160	40	265	224	66	0.08
Kaklamani等 ^[10]	2008	美国	白种人	208	180	45	285	293	58	0.16
Keku等 ^[11]	2012	美国	白种人	122	106	27	223	204	36	0.25
Keku等 ^[11]	2012	美国	非裔美国人	78	94	19	116	119	41	0.25
Partida-Perez等 ^[12]	2010	墨西哥	白种人	51	40	3	30	25	3	0.44
Tsilidis等 ^[14]	2009	美国	白种人	96	86	19	198	134	27	0.51
张颖等 ^[15]	2012	中国	亚洲人	196	139	35	174	152	44	0.23
rs2241766T/G				TT	TG	GG	TT	TG	GG	
Al-Harithy等 ^[7]	2012	沙特阿拉伯	亚洲人	40	20 ^a		27	33 ^a		NA
He等 ^[9]	2011	中国	亚洲人	190	193	37	278	238	39	0.21
Kaklamani等 ^[10]	2008	美国	白种人	279	141	20	435	172	41	<0.01
Partida-Perez等 ^[12]	2010	墨西哥	白种人	74	34	3	42	16	0	0.22
张颖等 ^[15]	2012	中国	亚洲人	167	172	31	186	158	26	0.33
rs266729C/G				CC	CG	GG	CC	CG	GG	
Gornick等 ^[8]	2011	以色列	亚洲人	576	486 ^a		588	474 ^a		NA
He等 ^[9]	2011	中国	亚洲人	173	205	42	243	261	51	0.11
Kaklamani等 ^[10]	2008	美国	白种人	244	163	27	340	271	47	0.48
Pechlivanis等 ^[13]	2009	捷克	白种人	366	238	55	373	278	65	0.21
张颖等 ^[15]	2012	中国	亚洲人	146	185	39	162	172	36	0.32

P_{HWE} : H-W平衡检验值; ^a杂合子和突变纯合子频数之和; NA: 无法获取。

篇。经仔细阅读文题和摘要, 排除62篇, 初纳入9篇文献, 其中Keku等^[11]研究包含两个独立的研究, 合并分析时视为2个研究。有7篇文献(包括8项研究)^[7,9-12,14,15]涉及rs1501299G/T基因多态性, 包括2024例患者和2777例对照; 5篇文献^[7,9,10,12,15]涉及rs2241766T/G基因多态性, 包括1401例患者和1691例对照; 5篇文献^[8-10,13,15]涉及rs266729C/G基因多态性, 包括2945例患者和3361例对照。除3篇文献^[7,8,10]外其余均符合H-W平衡。

2.2 Meta分析结果

2.2.1 rs1501299G/T多态性: 8项研究合并结果显示, 在4种遗传模型中, rs1501299G/T基因多态性与结直肠癌易感性均无明显关联(显性模型: OR = 0.94, 95%CI: 0.83-1.05, $P = 0.27$; 隐性模型: OR = 0.94, 95%CI: 0.77-1.15, $P = 0.26$; GT vs GG: OR = 0.94, 95%CI: 0.83-1.06, $P = 0.36$; TT vs GG: OR = 0.92, 95%CI: 0.75-1.12, $P = 0.25$)(图1, 表2)。

2.2.2 rs2241766T/G多态性: 5项研究结果显示, 在TG/TT模型中, 与结直肠癌风险性有显著关系(TG vs TT: OR = 1.22, 95%CI: 1.05-1.43, $P = 0.008$)(图2), 而在其他基因模型中未发现有关

系, (显性模型: OR = 1.12, 95%CI: 0.89-1.40, $P = 0.09$; 隐性模型: OR = 1.07, 95%CI: 0.80-1.43, $P = 0.30$; GG vs TT: OR = 1.16, 95%CI: 0.86-1.56, $P = 0.31$)(图1, 表2)。

2.2.3 rs266729C/G多态性: 5项研究合并结果发现, 该位点基因多态性与结直肠癌风险性无明显关联(显性模型: OR = 0.99, 95%CI: 0.90-1.09, $P = 0.19$; 隐性模型: OR = 0.98, 95%CI: 0.79-1.22, $P = 0.83$; CG vs CC: OR = 0.96, 95%CI: 0.85-1.10, $P = 0.19$; GG vs CC: OR = 0.98, 95%CI: 0.78-1.22, $P = 0.53$)(图1, 表2)。

2.3 敏感性分析 依次剔除1篇文献后, 评估结果的稳定性, 对rs2241766T/G多态性, 剔除Al-Harithy等^[7]文献后, 研究间异质性消失; 而对其他2个基因多态性, 依次剔除1篇文献后, OR值无明显改变, 证明我们的结果是可靠的(图2)。

2.4 发表偏倚分析 用Begg漏斗图和Egger's检验文献潜在发表偏倚。Begg漏斗图结果显示未见发表偏倚, Egger's检验在显性模型中也未发现有关偏倚(rs1501299G/T: $P = 0.095$, rs2241766T/G: $P = 0.316$, rs266729C/G: $P = 0.952$)(图3)。

表 2 脂联素基因多态性与结直肠癌关联研究的Meta分析结果

单核苷酸多态性	文献数量	显性遗传		隐性遗传		杂合子vs野生纯合子		突变纯合子vs野生纯合子	
		OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h
rs1501299G/T	8	0.94[0.83–1.05]	0.27	0.94[0.77–1.15]	0.26	0.94[0.83–1.06]	0.36	0.92[0.75–1.12]	0.25
rs2241766T/G	5	1.12[0.89–1.40]	0.09 ^a	1.07[0.80–1.43]	0.30	1.22[1.05–1.43]	0.98	1.16[0.86–1.56]	0.31
rs266729C/G	5	0.99[0.90–1.09]	0.19	0.98[0.79–1.22]	0.83	0.96[0.85–1.10]	0.19	0.98[0.78–1.22]	0.53

P_h : 异质性检验; ^a $P_h < 0.1$ 选用随机效应模型, 否则选用固定效应模型。

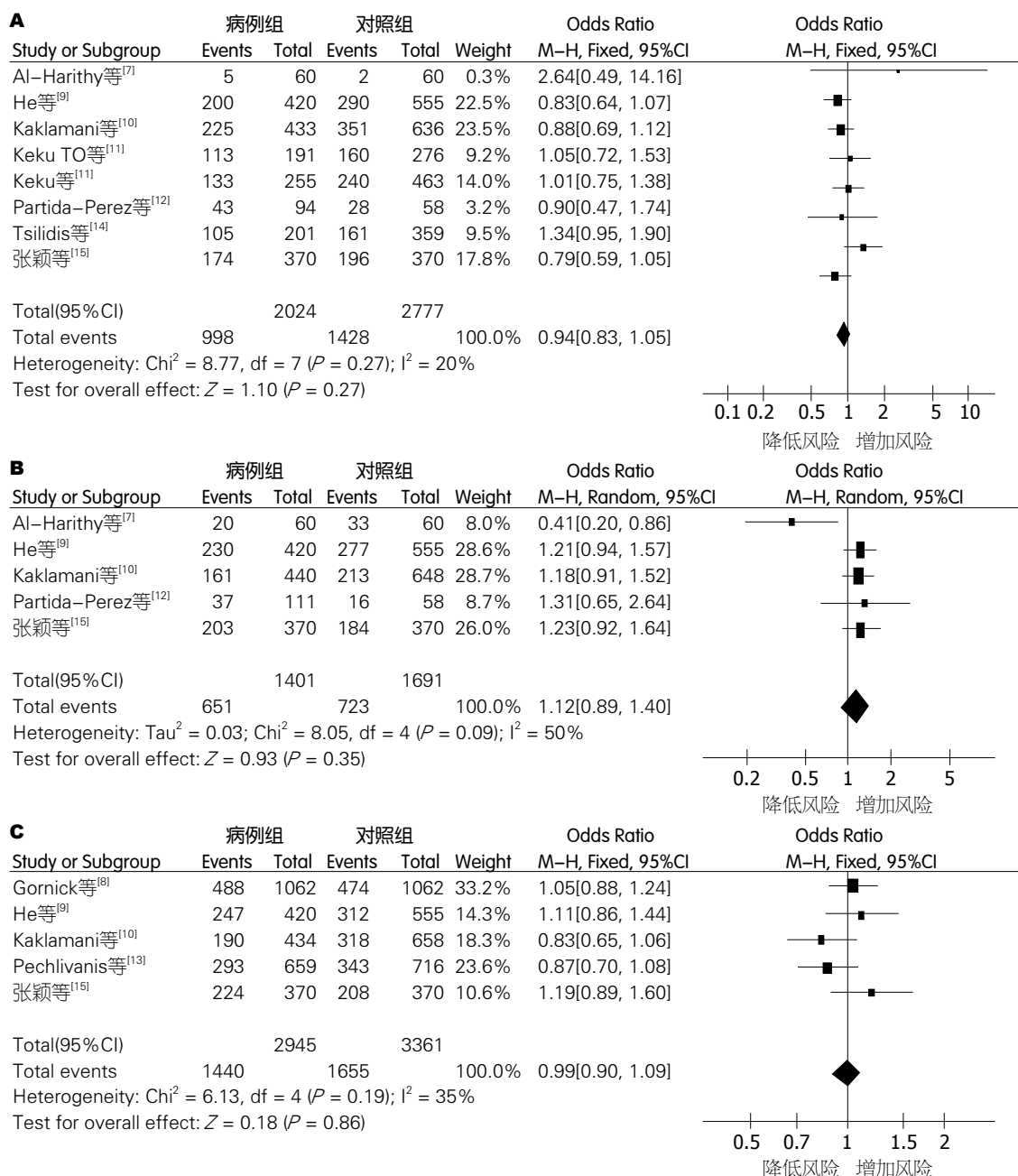


图 1 脂联素基因多态性与结直肠癌风险相关性的Meta分析(显性模型). A: rs1501299G/T; B: rs2241766T/G; C: rs266729C/G.

3 讨论

脂联素是脂肪组织特异性分泌的一种内源性蛋白质。1995年, 由Scherer等^[21]首次发现。近年来,

大量研究发现脂联素水平降低可能参与结直肠癌的发生、发展过程。然而其具体作用机制尚不明确, 目前多数学者认为可能通过直接(抑制

■创新盘点

近年来, 有大量关于脂联素基因多态性与结直肠癌患者易感性的关系的研究, 但结论不一, 所以本文就此进行研究, 分析脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的关系。

■同行评价

本文设计科学合理, 分析客观, 统计合理, 结论可靠, 有一定的临床指导意义.

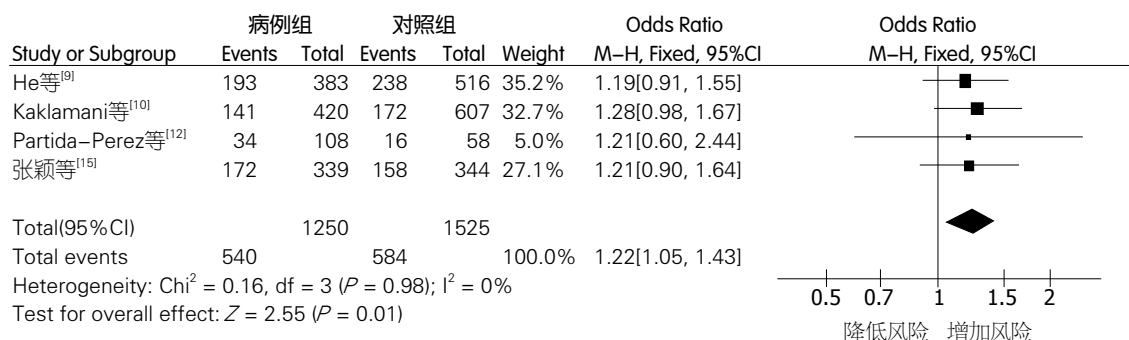


图2 脂联素rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌风险相关性的Meta分析. TG vs TT遗传模型.

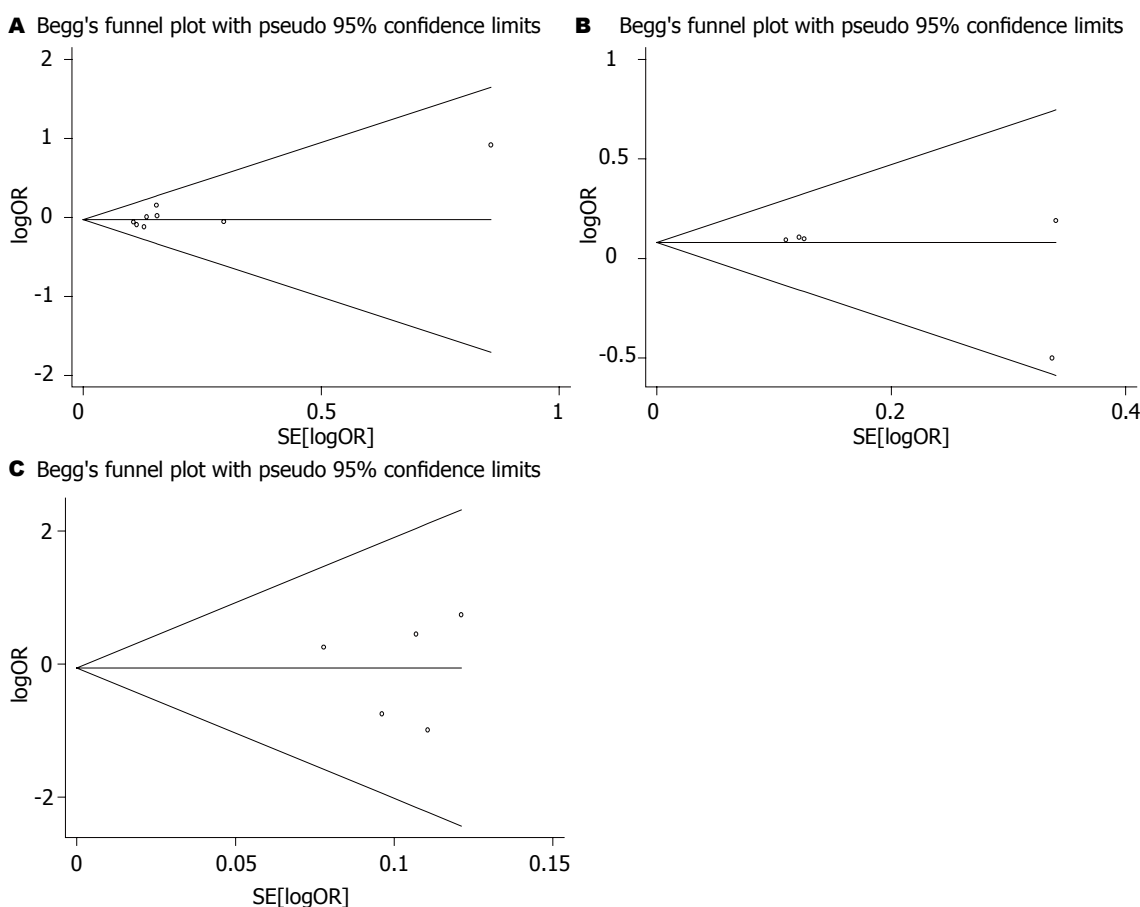


图3 Egger's线性回归模型漏斗图(显性模型). A: rs1501299G/T; B: rs2241766T/G; C: rs266729C/G.

肿瘤细胞增殖)^[22]和间接作用(调节胰岛素抵抗, 肥胖、抑制肿瘤血管生成等)^[23,24]来发挥作用. 2012年, An等^[25]发表的一篇关于脂联素水平与结直肠癌及腺瘤风险Meta分析显示, 在肿瘤患者中脂联素水平较对照组低, 也提示脂联素可能是结直肠癌的一个保护因素.

本研究共纳入9篇文献, 选取了脂联素基因3个常见位点(rs1501299G/T, rs2241766T/G, rs266729C/G)进行评估, 合并结果显示, 仅在TG vs TT遗传模型中, rs2241766T/G多态性与结

肠癌风险性显著相关, 而其他两个位点基因多态性与结直肠癌易感性之间无明显关联. 这种现象可能与不同基因位点所起的作用不同有关. 另外, 结肠癌的发生是个多因素、多步骤发展的过程, 其中可能涉及基因-基因, 基因-环境相互作用等多种因素的作用, 而这些因素可能会影响脂联素基因多态性与结直肠癌的发病风险. 异质性在基因相关的Meta分析中比较常见, 其也是影响结果可靠性的重要因素之一^[26], 本研究中, 在显性模型rs2241766T/G多态性发现存在

异质性, 当剔除Al-Harithy等文献后, 研究间异质性消失, 提示该研究可能是异质性的来源. 而对其他2个基因多态性, OR值变化微乎其微, 通过Begg漏斗图和Egger检验评估发表偏倚, 未发现发表偏倚, 说明结论较可靠.

本文存在一定的局限性: (1)纳入的文献较少, 且有3篇文献不满足H-W平衡, 结论的可靠性有待进一步验证; (2)纳入的文献均为正式发表的文献, 仍有发表偏倚的可能; (3)未考虑年龄、性别、体质量及其他基因相互因素.

总之, 脂联素rs2241766T/G与结直肠癌发生风险性存在相关性, 然而, 受研究数量的限制, 以上结论尚需更多设计严谨、样本量大的高质量研究加以证实.

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278: 1043-1050 [PMID: 9353177 DOI: 10.1126/science.278.5340.1043]
- Risch N. The genetic epidemiology of cancer: interpreting family and twin studies and their implications for molecular genetic approaches. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 733-741 [PMID: 11440958]
- Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46: 459-469 [PMID: 12687327]
- Yang WS, Chuang LM. Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome. *J Mol Med (Berl)* 2006; 84: 112-121 [PMID: 16389553 DOI: 10.1007/s00109-005-0011-7]
- Gialamas SP, Petridou ET, Tseloni-Balafouta S, Spyridopoulos TN, Matsoukis IL, Kondi-Pafiti A, Zografos G, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels and tissue expression of adiponectin receptors are associated with risk, stage, and grade of colorectal cancer. *Metabolism* 2011; 60: 1530-1538 [PMID: 21632074 DOI: 10.1016/j.metabol.2011.03.020]
- Al Khaldi RM, Al Mulla F, Al Awadhi S, Kapila K, Mojiminiyi OA. Associations of single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene with adiponectin levels and cardio-metabolic risk factors in patients with cancer. *Dis Markers* 2011; 30: 197-212 [PMID: 21694446 DOI: 10.1155/2011/832165]
- Gornick MC, Rennert G, Moreno V, Gruber SB. Adiponectin gene and risk of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 562-564 [PMID: 21829206 DOI: 10.1038/bjc.2011.259]
- He B, Pan Y, Zhang Y, Bao Q, Chen L, Nie Z, Gu L, Xu Y, Wang S. Effects of genetic variations in the adiponectin pathway genes on the risk of colorectal cancer in the Chinese population. *BMC Med Genet* 2011; 12: 94 [PMID: 21749709 DOI: 10.1186/1471-2350-12-94]
- Kaklamani VG, Wisinski KB, Sadim M, Gulden C, Do A, Offit K, Baron JA, Ahsan H, Mantzoros C, Pasche B. Variants of the adiponectin (ADIPOQ) and adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) genes and colorectal cancer risk. *JAMA* 2008; 300: 1523-1531 [PMID: 18827209 DOI: 10.1001/jama.300.13.1523]
- Keku TO, Vidal A, Oliver S, Hoyo C, Hall IJ, Omofoye O, McDoom M, Worley K, Galanko J, Sandler RS, Millikan R. Genetic variants in IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, and adiponectin genes and colon cancer risk in African Americans and Whites. *Cancer Causes Control* 2012; 23: 1127-1138 [PMID: 22565227 DOI: 10.1007/s10552-012-9981-2]
- Partida-Pérez M, de la Luz Ayala-Madrigril M, Peregriana-Sandoval J, Macías-Gómez N, Moreno-Ortiz J, Leal-Ugarte E, Cárdenas-Meza M, Centeno-Flores M, Maciel-Gutiérrez V, Cabrales E, Cervantes-Ortiz S, Gutiérrez-Angulo M. Association of LEP and ADIPOQ common variants with colorectal cancer in Mexican patients. *Cancer Biomark* 2010; 7: 117-121 [PMID: 21263187]
- Pechlivanis S, Bermejo JL, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Novotny J, Hemminki K, Vodicka P, Försti A. Genetic variation in adipokine genes and risk of colorectal cancer. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 933-940 [PMID: 19273568 DOI: 10.1530/EJE-09-0039]
- Tsilidis KK, Helzlsouer KJ, Smith MW, Grinberg V, Hoffman-Bolton J, Clipp SL, Visvanathan K, Platz EA. Association of common polymorphisms in IL10, and in other genes related to inflammatory response and obesity with colorectal cancer. *Cancer Causes Control* 2009; 20: 1739-1751 [PMID: 19760027 DOI: 10.1007/s10552-009-9427-7]
- 张颖, 冯全林, 刘长明, 狄荣科. 脂联素及其受体基因多态性与结直肠癌发生的相关性研究. *江苏大学学报(医学版)* 2012; 22: 336-341
- Lau J, Ioannidis JP, Schmid CH. Quantitative synthesis in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997; 127: 820-826 [PMID: 9382404 DOI: 10.7326/0003-4819-127-9-199711010-00008]
- Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748 [PMID: 13655060]
- DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833 DOI: 10.1016/0197-2456(86)90046-2]
- Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]
- Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563 DOI: 10.1136/bmj.315.7109.629]
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 26746-26749 [PMID: 7592907 DOI: 10.1074/jbc.270.45.26746]
- Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: s858-s866 [PMID: 18265479]
- Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki

- H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8: 1288-1295 [PMID: 12368907 DOI: 10.1038/nm788]
- 24 Bråkenhielm E, Veitonmäki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhivotovsky B, Funahashi T, Cao Y. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2476-2481 [PMID: 14983034 DOI: 10.1073/pnas.0308671100]
- 25 An W, Bai Y, Deng SX, Gao J, Ben QW, Cai QC, Zhang HG, Li ZS. Adiponectin levels in patients with colorectal cancer and adenoma: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 2012; 21: 126-133 [PMID: 21960184 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e32834c9b55]
- 26 Boccia S, De Feo E, Galli P, Gianfagna F, Amore R, Ricciardi G. A systematic review evaluating the methodological aspects of meta-analyses of genetic association studies in cancer research. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 765-775 [PMID: 20830507]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006

罗宜辉, 主治医师, 主要从事消化内镜及幽门螺杆菌防治工作。

作者贡献分布: 此课题由罗宜辉设计; 病例收集由罗宜辉、潘美云及练海燕操作完成; 数据分析和论文修改由刘代华完成; 本文写作由罗宜辉完成。

通讯作者: 罗宜辉, 主治医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科2病区。lyh145@aliyun.com

电话: 0772-2662769

收稿日期: 2013-06-22 修回日期: 2013-07-18

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Efficacy of different durations of probiotic therapy in *Helicobacter pylori* eradication

Yi-Hui Luo, Dai-Hua Liu, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian

Yi-Hui Luo, Dai-Hua Liu, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Yi-Hui Luo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, 8 Wengchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyh145@aliyun.com

Received: 2013-06-22 Revised: 2013-07-18

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To observe the clinical efficacy of different durations of therapy with composite lactobacillus capsules in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication.

METHODS: Two hundred *H. pylori*-positive patients with chronic gastritis or peptic ulcer were randomly divided into a control group, a short course group, a middle course group and a long course group. The control group underwent standard triple therapy (raberazone, clarithromycin and amoxicillin for 7 d). Composite lactobacillus capsules were additionally given to the short course group, middle course group and long course group for 1, 2, and 4 wk on the basis of standard triple therapy, respectively. The ¹⁴C urea breath test was performed 4 wk after all drugs were stopped. The rate of *H. pylori* eradication and safety were evaluated.

RESULTS: In total, 195 patients completed the treatment and follow-up according to the experimental design. There was no difference in the rate of *H. pylori* eradication between the short course group and control group (64.0% vs 62.5%, $P > 0.05$). The eradication rate was significantly higher in the middle course group and long course group than in the control group (83.7%, 85.4% vs 62.5%, both $P < 0.05$), but there was no significant difference between the middle course group and long course group. Adverse reactions were slight in all the groups, and there was no significant difference in the rate of adverse reactions between different groups.

CONCLUSION: Composite lactobacillus capsules with triple therapy can improve the rate of *H. pylori* eradication. Two weeks is the best course of treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Composite lactobacillus capsules; Raberazone; Clarithromycin; Amoxicillin; *Helicobacter pylori*

Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY. Efficacy of different durations of probiotic therapy in *Helicobacter pylori* eradication. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(28): 3037-3040 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3037>

摘要

目的: 探讨不同疗程复合乳酸菌胶囊对根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)疗效的影响。

方法: *H. pylori*阳性的慢性胃炎、消化性溃疡患者200例, 分为对照组、短疗程组、中疗程组、长疗程组, 每组50例。对照组予雷贝拉唑、克拉霉素、阿莫西林三联治疗7 d; 短疗程组、中疗程组、长疗程组在上述标准三联、7 d疗法开始治疗的同时分别加用复合乳酸菌胶囊, 分别服用1、2、4 wk。停用复合乳酸菌胶囊4 wk后复查*H. pylori*, 比较各组的*H. pylori*根除率、药物不良反应发生率。

■背景资料

目前标准幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除疗法的根除率不断下降, 寻找新的治疗药物及方案是目前研究的热点。益生菌在*H. pylori*根除治疗中的作用备受关注, 本研究采用复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法根除*H. pylori*, 初步探讨复合乳酸菌胶囊在根除*H. pylori*中疗效及最佳疗程。

■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■ 研发前沿

益生菌在 *H. pylori* 根除治疗中的应用尚存诸多疑问, 选择何种益生菌、何时开始给药、最佳疗程等问题均待进一步研究。

结果: 共195例按试验设计完成治疗和随访。短疗程组 *H. pylori* 根除率(64.0%)与对照组(62.5%)无显著差异($P>0.05$), 中疗程组(83.7%)、长疗程组(85.4%)根除率均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。中疗程组根除率略低于长疗程组, 但差异无统计学意义。各组不良反应发生率均较低且差异无显著性。

结论: 联用复合乳酸菌胶囊能显著提高 *H. pylori* 根除率, 2 wk左右的疗程为最佳的选择。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 复合乳酸菌胶囊; 雷贝拉唑; 克林霉素; 阿莫西林; 幽门螺杆菌

核心提示: 复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法能显著提高幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)根除率, 而2 wk左右的疗程可能是复合乳酸菌胶囊的最佳选择, 进一步延长疗程无助于提高根除率, 但可能对减少药物不良反应有一定价值。

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕. 不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3037-3040 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i28.3037>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌等疾病的主要致病因素^[1], 彻底根除 *H. pylori* 对上述疾病的治疗有重要价值。目前标准根除疗法的根除率不断下降, 且标准根除疗法中包含的抗生素长期使用可引起胃肠功能紊乱及胃肠道菌群失调等不良反应^[2], 寻找新的治疗药物及方案是目前研究的热点。近年益生菌在 *H. pylori* 根除治疗中的作用日益受到关注, 关于益生菌在 *H. pylori* 根除治疗中的疗程选择未见有文献报道, 本研究采用不同疗程的复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法根除 *H. pylori*, 初步探讨复合乳酸菌胶囊在根除 *H. pylori* 中疗效及最佳疗程。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究经我院伦理委员会讨论同意, 所有患者签署知情同意书。选取2011-06/2013-01在我院门诊就诊的、*H. pylori* 阳性的慢性胃炎、消化性溃疡患者共计200例。按年龄、性别和诊断分组, 每组50例, 分为对照组、短疗程组、中疗程组、长疗程组。

1.2 方法

1.2.1 入选标准: 经胃镜证实为活动性胃、十二指肠溃疡、慢性非萎缩性胃炎伴糜烂; 年龄为18-60岁; 快速尿素酶试验、¹⁴C尿素呼气试验两项检查均为阳性者; 无 *H. pylori* 根除治疗史。

1.2.2 病例剔除标准: 恶性溃疡或疑为恶性溃疡者; 4 wk内用过抗生素、铋剂, 2 wk内用过质子泵抑制剂或H₂受体拮抗剂; 有严重心、肝、肾疾病及恶性肿瘤者; 妊娠或哺乳期妇女; 出现溃疡并发症者如幽门梗阻、出血、穿孔; 合并其他疾病目前正服药治疗患者。

1.2.3 终止试验标准: 患者病情恶化改变治疗方案; 治疗期间出现其他严重疾病无法坚持治疗或需要服用其他药物患者; 未在随访窗内(复查需在停用所有药物后4 wk±1 wk内)接受随访患者; 自动退出试验患者。

1.2.4 治疗及疗效评价: 对照组予雷贝拉唑20 mg/d、克拉霉素1 g/d、阿莫西林2 g/d, 上述药物均分2次/d口服, 疗程1 wk; 短疗程组、中疗程组、长疗程组在给予上述标准三联、7 d疗法的基础上, 分别从治疗的第1天起开始加用复合乳酸菌胶囊, 疗程分别为1、2、4 wk, 复合乳酸菌胶囊(0.33 g/粒, 批号: 130407, 商品名: 聚克, 江苏美通制药有限公司生产。每粒含活乳酸菌总数不少于2万个, 主要包含乳酸乳杆菌、嗜酸乳杆菌和乳酸链球菌)0.66 g/次, 口服, 3次/d, 与抗生素间隔3 h服用。用药期间每周随访1次, 记录药物不良反应。各组均在复合乳酸菌胶囊停药4 wk后, 做¹⁴C尿素呼气试验,¹⁴C尿素呼气试验阴性判定为 *H. pylori* 根除成功。

1.2.5 ¹⁴C尿素呼气试验: 采用尿素¹⁴C呼气试验药盒、HUBT-01型 *H. pylori* 测试仪(均由深圳市中核海得威生物科技有限公司生产), 受试者禁食6 h以上, 受试前漱口, 用约20 mL凉饮用水送服尿素¹⁴C胶囊一粒后, 静坐25 min后, 开启CO₂集气剂, 插入洁净的有防倒流装置的气体导管, 导管下端浸入集气剂液内, 受试者通过导管吹气。当CO₂集气剂由紫红色变为无色时停止吹气(约1-3 min), 若超过3 min褪色不全, 亦停止吹气。经HUBT-01型 *H. pylori* 测试仪检测, ≥150 dpm为阳性。

1.2.6 快速尿素酶试验: 采用 *H. pylori* 快速检测试剂盒(尿素酶试剂盒)(福建三明市安信生物技术有限公司, 批号: 20110801)。取出微孔药条, 滴加1-2滴反应液至药膜完全溶解(呈黄或亮黄色), 用已灭菌的牙签挑取胃镜取出的胃黏膜置于药液中, 在25 °C条件下孵育, 5 min后观察结果: 红色或紫色-阳性; 黄色或亮黄色-阴性。

表 1 基本人口学资料 (*n*)

基本资料	对照组	短疗程组	中疗程组	长疗程组
性别				
男	24	25	25	25
女	24	25	24	23
年龄(岁)				
18-34	15	17	15	14
35-44	15	16	17	17
45-60	18	17	17	17
吸烟史(年)				
≥10	7	6	5	5
1-9	4	2	3	5
无吸烟史	37	42	41	38
内镜诊断				
活动性胃溃疡	7	8	10	12
活动性十二指肠炎	10	8	9	8
慢性非萎缩性胃炎	31	34	30	28
合计	48	50	49	48

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 计数资料用%表示, 各组*H. pylori*根除率、药物不良反应发生率的组间比较采用 χ^2 检验. $P<0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 基本人口学资料 各组性别、年龄、吸烟史和疾病类型的差异无统计学意义(表1).

2.2 *H. pylori*根除率的比较 短疗程组*H. pylori*根除率与对照组无显著差异, 中疗程组、长疗程组根除率均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 中疗程组根除率略低于长疗程组, 但无显著差异(表2).

2.3 不良反应的比较 对照组有2例患者因腹泻、腹胀要求退出试验, 中疗程组有1例失访退出试验, 长疗程组因2例出现便秘、腹胀退出试验. 各组不良反应多较轻微, 组间不良反应发生率无显著差异(表3).

3 讨论

理想的*H. pylori*根除方案包括根除率>90%、不良反应少等条件^[3], 但近年来*H. pylori*的根除率不断下降, 国外的文献报导标准三联疗法的根除率已低于或远低于80%^[4], 我国多中心的研究提示含质子泵抑制剂的三联疗法根除率分别仅68.6%-82.7%^[3], 我们的前期研究发现, 我院三联疗法对*H. pylori*根除率仅为72%左右, 寻找新的

表 2 各组*H. pylori*根除率比较 *n*(%)

分组	<i>n</i>	根除率
对照组	48	29(62.5)
短疗程组	50	32(64.0)
中疗程组	49	39(83.7) ^a
长疗程组	48	41(85.4) ^a

^a $P<0.05$ vs 对照组.

表 3 各组不良反应的比较

分组	<i>n</i>	不良反应类型					合计 <i>n</i> (%)
		恶心	呕吐	腹泻	便秘	腹胀	
对照组	48	2	0	1	0	1	4(8.3)
短疗程组	50	0	1	2	1	0	4(8.0)
中疗程组	49	1	0	1	0	0	2(4.1)
长疗程组	48	0	0	0	1	2	3(6.3)

治疗药物及方案是目前急需解决的问题.

益生菌用于根除*H. pylori*治疗日益受到国内外学者的关注, 益生菌是指能促进肠道内菌群平衡、对宿主起到有益作用的活的微生物制剂, 很早就有学者发现, 喜欢喝酸奶的人*H. pylori*的感染率较低^[5], Sheu等^[6]研究证实含乳酸菌和双歧杆菌的AB-酸奶联合三联疗法能显著提高*H. pylori*的根除率. 目前发现益生菌抗*H. pylori*的机制包括: 抑制*H. pylori*黏附于胃上皮、影响*H. pylori*的定植, 通过稳定黏膜屏障、分泌黏蛋白、调整宿主免疫反应等减轻胃黏膜组织的炎症反应、分泌某些抗菌物质抑制或直接杀死*H. pylori*等^[7-10].

研究表明并非所有的益生菌均有抗*H. pylori*作用, 目前一致认为乳酸菌属如乳酸杆菌、双歧杆菌等均有较好的治疗效果, 而且多种益生菌的混合制剂较单一制剂效果更好^[11]. 复合乳酸菌胶囊是乳酸杆菌、嗜乳酸杆菌和乳酸链球菌三种活乳酸菌的复方制剂, 临床常用于腹泻, 疗效确切. 采用复合乳酸菌胶囊联合标准疗法根除*H. pylori*的疗效评价少见有文献报导, 我们的研究观察到复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法能显著提高*H. pylori*根除率($P<0.05$).

关于益生菌根除*H. pylori*治疗的疗程选择未见有文献报导, Du等^[12]提出“益生菌的最佳疗程尚未确定”, 目前大多数的临床试验多采用与标准疗法疗程相同的给药疗程, 即7-14 d, 目前能检索到的文献中最长疗程为4 wk^[13], 本

■ 相关报道

很早就有学者发现喜欢喝酸奶的人*H. pylori*的感染率较低, 研究表明益生菌抗*H. pylori*的机制包括: 抑制*H. pylori*黏附于胃上皮、影响*H. pylori*的定植、调节宿主免疫反应、分泌某些抗菌物质抑制或直接杀死*H. pylori*等.

■同行评价

本研究针对益生菌联合根除*H. pylori*的方案开展分组对照临床研究, 因为对于益生菌的疗程目前没有确定, 因此本研究有较强的创新性和临床意义。

研究首次评价了不同疗程复合乳酸菌胶囊对根除*H. pylori*的疗效差异, 纳入研究的复合乳酸菌胶囊疗程为1、2及4 wk, 最终我们的研究显示, 标准三联7 d疗法联用复合乳酸菌胶囊1 wk, 其根除率并无显著提高($P<0.05$), 而联用复合乳酸菌胶囊2和4 wk后, 其根除率均有显著的提高($P<0.05$), 而有意义的是, 虽然联用复合乳酸菌胶囊4 wk的根除率较联用2 wk的根除率有所提高(85.4% vs 83.7%), 但差异并无统计学意义($P>0.05$), 提示复合乳酸菌胶囊可能在达到一定疗程之后, 再依靠延长使用时间已无助于提高*H. pylori*根除率, 未能进一步探讨其机制是本研究的缺陷所在, 同时此结果尚待多中心、大样本的临床试验验证, 而其他益生菌制剂是否也存在这一现象也需进一步的研究证实。

药物不良反应是导致患者中断治疗从而引起*H. pylori*根除率下降的原因之一, 研究发现联用益生菌还能显著减少在根除*H. pylori*治疗中的药物不良反应, 这可能与减轻根除*H. pylori*治疗导致的肠道微生态失衡有关^[14], 但与Scaccianoce等^[15]的结论相同, 我们的研究结果也未能支持此观点, 这可能与我们的标准三联7 d疗法本身不良反应发生率较低及本研究较少的样本量有关。

总之, 我们的研究证实在标准三联疗法的基础上联用复合乳酸菌胶囊能显著提高*H. pylori*根除率, 而2 wk左右的疗程可能为最佳的选择, 进一步延长疗程无助于提高根除率, 但可能对减少药物不良反应有一定价值。

4 参考文献

- 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染诊疗指南. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 20-35
- Dajani AI, Abu Hammour AM, Yang DH, Chung PC, Nounou MA, Yuan KY, Zakaria MA, Schi HS. Do probiotics improve eradication response to *Helicobacter pylori* on standard triple or sequential therapy? *Saudi J Gastroenterol* 2013; 19: 113-120 [PMID: 23680708]
- Kasap E, Ayhan S, Yüceyar H. Does *Helicobacter pylori* treatment improve the symptoms of globus hystericus? *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 681-685 [PMID: 23794305]
- Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. A report card to grade *Helicobacter pylori* therapy. *Helicobacter* 2007; 12: 275-278 [PMID: 17669098 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00518.x]
- Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 737-741 [PMID: 15321816]
- Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1669-1675 [PMID: 12197847 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01335.x]
- Yang YJ, Sheu BS. Probiotics-containing yogurts suppress *Helicobacter pylori* load and modify immune response and intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori*-infected children. *Helicobacter* 2012; 17: 297-304 [PMID: 22759330]
- de Vrese M, Kristen H, Rautenberg P, Laue C, Schrezenmeier J. Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. *J Dairy Res* 2011; 78: 396-403 [PMID: 21871144]
- 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 第3版. 北京: 中国科技出版社, 2009: 635-636
- Deguchi R, Nakaminami H, Rimbara E, Noguchi N, Sasatsu M, Suzuki T, Matsushima M, Koike J, Igarashi M, Ozawa H, Fukuda R, Takagi A. Effect of pretreatment with *Lactobacillus gasseri* OLL2716 on first-line *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 888-892 [PMID: 22098133]
- Chapman CM, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr* 2011; 50: 1-17 [PMID: 21229254]
- Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH, Guo CY, Xu P, Gong YF, Li ZS. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6302-6307 [PMID: 23180952]
- Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2010; 15: 206-213 [PMID: 20557362]
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499]
- Scaccianoce G, Zullo A, Hassan C, Gentili F, Cristofari F, Cardinale V, Gigliotti F, Piglionica D, Morini S. Triple therapies plus different probiotics for *Helicobacter pylori* eradication. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008; 12: 251-256 [PMID: 18727457]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/ml应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

董蕾 教授
西安交通大学第二附属医院消化内科

高凌 副教授
武汉大学人民医院内分泌科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

黄晓东 主任医师
武汉市中心医院消化内科

姜卫东 教授
安徽省立医院肝胆外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

江学良 教授
中国人民解放军济南军区总医院消化科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李焱 副研究员
中山大学肿瘤防治中心实验研究部

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

刘改芳 主任医师
河北医科大学第三医院消化内科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

宁钧宇 副研究员
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邵华 副主任药师
东南大学附属中大医院药剂科

谭晓冬 教授
中国医科大学附属盛京医院

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

吴泰璜 教授
山东省立医院肝胆外科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

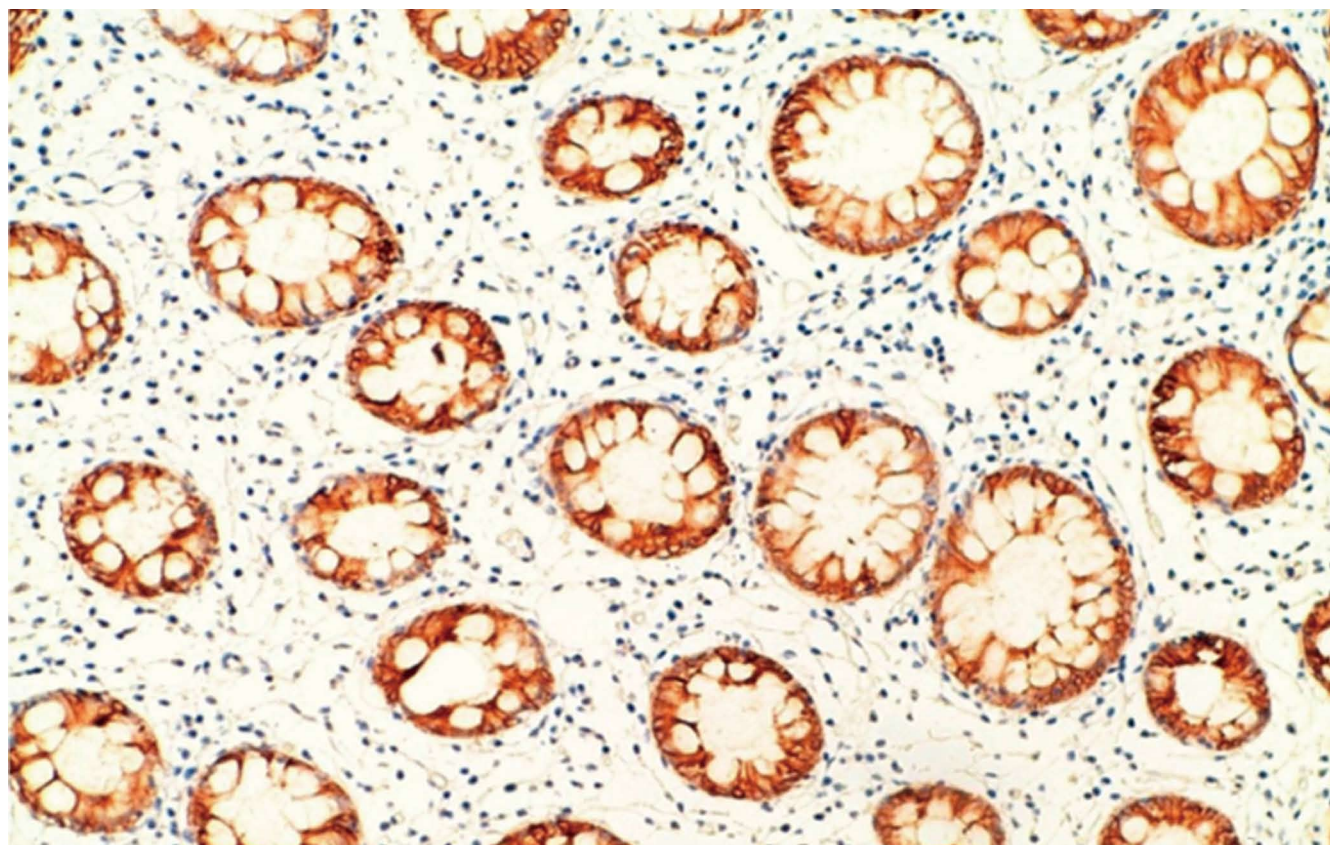


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 10 月 18 日 第 21 卷 第 29 期 (Volume 21 Number 29)



29 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年10月18日 第21卷 第29期 (总第433期)

述 评	3041 离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用 刘雪梅, 虞必光
基础研究	3047 医用胶栓塞肝门静脉的效果 蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石 3053 shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响 范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福
临床研究	3059 ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性 陈吉, 牛昊书
文献综述	3067 肝X受体与肝脏疾病 贺晓敏, 柳长柏 3072 ¹²⁵ I粒子组织间插植治疗肝癌的进展 全宇梭, 曹秀峰 3078 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的研究进展 李华山, 张欣宇, 王晓锋 3083 质子泵抑制剂的应用与发展 周洁浩, 刘冰熔
研究快报	3089 活血化瘀通络中药复方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响 朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然 3097 TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义 李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群 3102 二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制 李海素, 杨崇美 3107 大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效 潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花
临床经验	3112 不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达 崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧 3119 老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访 陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆 3124 外周血CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg细胞与HBV携带者的相关性的Meta分析 潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏 3132 内毒素和前列腺素I ₂ /血栓素A ₂ 与1型肝肾综合征的关系 黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星 3139 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用 陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪 3142 阑尾黏液腺癌10例 钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民 3146 10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性 龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平 3153 溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系 姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊 3158 结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义 刘楠启, 孟胜男, 刘莹 3163 术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌的临床疗效 董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉 3168 可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值 钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江 3173 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义 高文颂, 熊晶, 王渝

病例报告	3179 肝血色病并肝癌1例 左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消息	3058 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3096 《世界华人消化杂志》参考文献要求 3118 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3131 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3138 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3145 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3152 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3162 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3182 《世界华人消化杂志》外文字符标注
封面故事	高文颂, 熊晶, 王渝. TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3173-3178 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2013-10-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wjcd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

October 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 29

EDITORIAL	3041 Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma <i>Liu XM, Tuo BG</i>
BASIC RESEARCH	3047 Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits <i>Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S</i> 3053 ShRNA-mediated <i>MRE11</i> gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU <i>Fan F, Geng L, Li DY, Li CF</i>
CLINICAL RESEARCH	3059 Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer <i>Chen J, Niu HS</i>
REVIEW	3067 Liver X receptors and liver diseases <i>He XM, Liu CB</i> 3072 Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma <i>Tong YS, Cao XF</i> 3078 Herbal fumigation for treatment of perianal eczema <i>Li HS, Zhang XY, Wang XF</i> 3083 Proton pump inhibitors <i>Zhou JH, Liu BR</i>
RAPID COMMUNICATION	3089 Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats <i>Zhu YN, Sun YF, He LL, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li FH, Zhang YF, Guo PR</i> 3097 Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits <i>Li JJ, Li T, Meng YP, Wu JW, Chai XQ</i> 3102 Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice <i>Li HS, Yang CM</i> 3107 Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats <i>Pan RY, Yan QT, Qu JS, Han HL, Xu JM, Xue LX, Zhang YJ, Qu MH</i>
CLINICAL PRACTICE	3112 Expression of Mucin-1 and Mucin-2 in different types of gastric lesions <i>Cui XQ, Jiang M, Dong QJ, Gao YQ, Xie XJ, Zhan SH</i> 3119 Long-term outcomes of endoscopic treatment of early gastric cancer in elderly patients <i>Chen X, Zhang ZQ, Wang ZQ, Liu J, Fu YH, Zhang Y, Zhou Q</i> 3124 Correlation between peripheral blood CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis <i>Pan ZQ, Lv H, Hu SY, Chen Y, Zhuang QJ, Xu L, Yao XS, Xiao Z, Qiu LM</i> 3132 Relationship between serum levels of endotoxin and PGI ₂ /TXA ₂ levels and hepatorenal syndrome <i>Huang HL, Nie X, He Y, Wu B, Song HL, Luo TX, Yang ZB, Gao BX, Li GX</i> 3139 Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct <i>Chen LL, Bu P, Chen CW, Liu J, Chen J, Deng DH</i> 3142 Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases <i>Zhong BH, Li YJ, Dong M, Kong FM</i> 3146 Association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease in a Guangxi Zhuang population <i>Long WY, Zhan LL, Chen L, Lv XP</i> 3153 Plasma and colonic mucosal levels of IL-23 and IL-17 in patients with ulcerative colitis <i>Yao HF, Shen H, Zheng K, Zhu L</i> 3158 Clinical significance of microRNA-625 expression in colorectal cancer <i>Liu NQ, Meng SN, Liu Y</i> 3163 Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II/III rectal cancer <i>Dong XH, Zhang XF, Yang Z, Liu GH</i> 3168 Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients <i>Qian JY, Gao JX, Qi YR, Wang WJ, Jia WJ</i> 3173 Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma <i>Gao WS, Xiong J, Wang Y</i>

CSAE REPORT	3179 Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report <i>Zuo LL, Xu Y, Yang J, Wu HM, Yang JH</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Gao WS, Xiong J, Wang Y.</i> Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(29): 3173-3178 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3173
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用

刘雪梅, 虞必光

刘雪梅, 虞必光, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省消化
疾病研究所 贵州省遵义市 563003

虞必光, 主任医师, 教授, 主要从事离子通道在胃肠道肿瘤中作
用的研究.

作者贡献分布: 刘雪梅论文写作; 虞必光修改审阅.

通讯作者: 虞必光, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 贵州省遵义市
大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科, 贵州省消化疾病
研究所. tuobiguang@aliyun.com

电话: 0852-8609205

收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-17

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma

Xue-Mei Liu, Bi-Guang Tuo

Xue-Mei Liu, Bi-Guang Tuo, Department of Gastroenterol-
ogy, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Digestive
Disease Institute of Guizhou Province, Zunyi 563003,
Guizhou Province, China

Correspondence to: Bi-Guang Tuo, Professor, Chief Physi-
cian, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of
Zunyi Medical College, Digestive Disease Institute of
Guizhou Province, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Gui-
zhou Province, China. tuobiguang@aliyun.com

Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-17

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

Ion channels are pore-forming membrane proteins which play regulatory roles in a variety of biological processes. Their abnormality in expression or activity has a close relationship with the proliferation and apoptosis of cancer cells. This article will describe the role of four ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma. Our review suggests that ion channels might be a new therapeutic target for hepatocellular carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ion channels; Hepatocellular carcinoma; Development; Progression

Liu XM, Tuo BG. Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3041-3046 URL:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3041.asp> DOI:

<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3041>

摘要

离子通道是一类微孔细胞膜蛋白质, 是维持机体生命活动的重要组分. 其本身表达和活性的异常改变与肿瘤细胞的增殖和凋亡密切相关. 本文系统阐述4种离子通道与肝细胞癌的关系及其在发生发展中的作用, 提示离子通道有可能成为肝细胞癌的新的药物治疗靶点.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 离子通道; 肝细胞癌; 发生; 发展

核心提示: 本文系统阐述4种离子通道分别通过改变细胞膜电位、参与细胞周期、改变胞内Ca²⁺浓度、胞质pH值和细胞体积等途径来影响肝癌细胞的增殖和凋亡, 揭示不同离子通道与肝细胞癌的关系及其在发生发展中的作用, 对于更加全面地阐明肝细胞癌的发病机制及提供新的药物治疗靶点, 具有十分重要的临床价值和科学意义.

刘雪梅, 虞必光. 离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3041-3046 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3041.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3041>

0 引言

细胞离子通道的结构和功能正常是维持生命过程的基础, 对于保持正常的新陈代谢和生理功能起着十分重要的作用. 近年来, 不断有文献报道了离子通道功能异常与癌症发生的关系, 特别是在肝细胞癌的研究中发现, 离子通道通过改变细胞膜电位、参与细胞周期、改变胞内Ca²⁺浓度、胞质pH值和细胞体积等途径来影响肿瘤细胞增殖和凋亡. 本文就离子通道在肝细胞癌发生发展中的研究进展做一介绍.

1 离子通道

离子通道是细胞膜上一类贯穿细胞膜的亲水性

■背景资料

细胞离子通道结构和功能的正常是维持生命活动的基础, 其表达和功能的异常与肿瘤的发生发展密切相关. 其中离子通道与肝细胞癌的关系逐步成为研究热点, 在此基础上, 我们系统介绍4种离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用.

■同行评议者

禄韶英, 博士, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

■ 研发前沿

本文主要概述了当前通过应用细胞分子生物学等技术方法系统探寻离子通道参与及调节肝细胞癌发生机制的研究,阐明肝细胞癌发生发展的分子生物学机制及作为靶点治疗的方向。

蛋白质微孔道。离子通道对离子的透过有较高的选择性,通常以通透性最高的离子命名,如氢离子通道、钾离子通道、钙离子通道和氯离子通道等。这些离子通道几乎分布于机体每一个细胞膜上,是维持机体生命活动的重要组份,其生物学功能主要表现在以下几个方面:(1)维持细胞内外pH值相对恒定;(2)决定细胞兴奋性、不应性和传导性。在神经、肌肉等兴奋性细胞, Na^+ 和 Ca^{2+} 通道主要调控去极化, K^+ 通道主要调控复极化和维持静息电位;(3)调节血管平滑肌舒缩活动;(4)参与突触传递;(5)维持细胞正常体积;(6)调节细胞内cAMP、cGMP、 Ca^{2+} 等第二信使浓度,从而触发肌肉收缩、腺体分泌、蛋白激酶激活和基因表达调节等一系列生理效应。离子通道结构和功能正常是细胞进行生命活动的基础,其特定位点突变将导致其激活、失活功能的异常,引起细胞功能紊乱,形成各种疾病^[1]。近年来,离子通道与肿瘤的关系逐渐引起人们关注,不断有研究发现,在肿瘤发生发展过程中,离子通道表达和活性发生改变对于肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭和转移等有着十分重要的影响^[2-8]。深入了解离子通道在肿瘤发生发展中的作用,不仅有利于更加全面地阐明肿瘤发病机制,也将可能为肿瘤预防和治疗提供新靶标和新的生物学干预手段。其中,原发性肝细胞癌是消化系常见的恶性肿瘤之一,且世界各地的发病率有上升趋势,但其病因和发病机制尚未完全肯定,且抗癌药物治疗效果不佳。目前,国内外不断有文献分别报道了以下4种离子通道在肝细胞癌中扮演的不同角色和作用。据此,系统深入的认识离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用有着十分重要的科学和临床意义。

2 氢离子相关通道

众所周知,保持细胞内的pH值相对恒定对于稳定细胞的功能来说是至关重要的,因为大多数细胞都有一个狭窄的pH值最适范围^[9]。正常情况下,保持偏碱性的细胞内环境有利于细胞生长,而偏酸性的细胞外环境有利于细胞侵袭。肿瘤细胞具有高糖酵解活性同时产生大量酸性代谢产物^[10],因此,通常生长于低氧微环境,且细胞外pH值低于其周围的正常细胞pH值^[11-13]。细胞外pH值偏酸和低氧微环境是不允许正常细胞生长且伴随着细胞凋亡^[14,15]。为了最大程度的减少这种由于细胞内pH值下降且伴随长期大量酸性物质堆积的潜在危险性,肿瘤细胞就必须启动

质子转运机制,通过上调通道蛋白泵出细胞内 H^+ 来保持细胞内外pH值相对稳定^[16],使其细胞内环境偏碱,而细胞外环境偏酸,才有利于其生长和侵袭,这种上调质子转运通道的能力对于肿瘤细胞存活是必不可少的。研究表明在肿瘤细胞有4种主要的细胞pH调节机制:(1)钠氢交换体;(2)碳酸氢盐转运剂;(3)质子-乳酸根共输体;(4)质子泵。而氢离子相关通道如:钠氢交换体(sodium hydrogen exchanger, NHE)和质子泵($\text{H}^+-\text{K}^+\text{ATPase}$, V-ATPase)被认为是在肿瘤细胞中重要的pH调节机制。在肿瘤细胞的生长^[17]、分化^[18]、细胞运动性^[14]、转移^[19]以及对肿瘤药物的耐药性^[20,21]上起着重要的作用。此外,国外有文献报道质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)与抗癌药物联合用药,能显著降低肿瘤细胞对抗癌药物的耐药性^[22]。囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶亚型c(V-ATPase c)的mRNA和蛋白质表达在原发性肝癌细胞中明显上调增加,促进了肝癌细胞的生长^[23]。在动物实验方面,在成功建立裸鼠-人肝癌皮下-肝内原位移植模型后,应用PPI和 V-ATPase c 特异性抑制剂(bafilomycinA1)能导致活体肿瘤细胞坏死^[16,23]。这表明氢离子相关通道抑制剂能够有效的抑制肝癌肿瘤细胞生长,有可能作为有选择能力的抗癌药物。同时,运用RNA干扰技术,特异性的沉默掉 V-ATPase c 能够有效的抑制原位肝癌移植模型肿瘤的生长和转移^[24]。而对于钠氢交换体亚型1(sodium hydrogen exchanger-1, NHE1)而言,其是钠氢交换体家族中表达最广泛的一员,主要催化胞内氢离子与胞外钠离子的交换,因此对于调节细胞内pH值起着非常重要的作用,同时在酸化肿瘤微环境的过程中起着显著性的作用。在原发性肝癌的研究中,NHE1被发现在肝癌细胞中高表达^[25],并参与了肿瘤转移,通过RNA干扰技术及其抑制剂阿米洛利对NHE1的作用能够明显抑制人肝癌细胞系SMMC-7721的细胞侵袭^[26]。这都表明氢离子通道中 V-ATPase c 和NHE1^[27]可能成为新的肝癌药物治疗靶点。

3 钙离子通道

钙离子做为第二信使,参与许多信号转导通路,在细胞周期进程,细胞凋亡,分化和增殖中发挥重大的作用^[28],胞内 Ca^{2+} 释放和胞外 Ca^{2+} 入胞是细胞周期和细胞增殖最基本信号转导途径。近年来,不断有文献报道了钙离子在肿瘤细胞中发挥的作用。其中发现了在不同种的肝癌细胞

系中均有T-型钙离子通道(T-type Ca^{2+} channel)的异常高表达, 封闭了有功能的T型钙离子通道能够显著的降低肝癌细胞株SNU449的增殖, 提示了T型钙离子通道参与调节了肝癌细胞的增殖^[29]. 另外, 我们知道细胞内钙离子浓度是由钙离子通道、钙泵和钙离子交换器调节和控制. 其中钠钙交换器是一种离子转运蛋白, 介导细胞内外钠离子和钙离子的交换, 我们的前期研究显示其可以通过控制细胞内钙离子浓度能够调控肝癌细胞的增殖. 同时已有文献报道钠钙交换器的抑制剂能够阻止氧化引起的细胞内钙的增加和引起肝癌细胞株HePG2的凋亡^[30], 这就提示了钠钙交换器调节和控制细胞内钙离子浓度, 并参与了对肝癌细胞增殖的调控. 故钙离子相关通道在肝细胞癌的研究中扮演着十分重要的角色, 有可能成为新的治疗目标.

4 钾离子通道

钾离子(K^+)通道是膜蛋白的一种, 广泛存在于细胞之中. 具有多种功能: 诸如参与神经递质的分泌、心率的调节、平滑肌的收缩等的调控. K^+ 通道亚型众多, 作用机制复杂, 具有重要的病理、生理和药理学意义. 1984年DeCoursey等^[31]在《Nature》上首先报道了钾离子通道在淋巴细胞增殖和分化中的作用, 随后在乳腺癌^[32]、黑色素瘤^[33]、前列腺癌^[34]等肿瘤细胞中也发现钾离子通道高表达, 阻断钾离子通道表达或阻滞钾离子通道均可使细胞增殖减慢^[35], 钾离子通道与肿瘤细胞增殖的关系就成为了肿瘤基础研究的新热点. 1996年Wonderlin等^[36]阐述了钾离子通道与肿瘤细胞增殖的关系: 激活的钾离子通道对于肿瘤细胞进入 G_1 期是必不可少的, 被阻断钾离子通道的肿瘤细胞将停滞在 G_0 - G_1 期. 因为, 钾离子通道的增加和开放, 可使细胞处于超极化状态, 能导致非电压敏感性钙释放激活的钙通道开放, 使钙离子进入细胞内, 有利于钙离子相关的细胞信号转导, 从而引起肿瘤细胞的增殖加快. 如果通过钾离子通道阻断剂抑制该过程, 就能抑制肿瘤细胞的增殖. 这表明, 钾离子通道在肿瘤细胞中通过调节细胞膜电位, 影响细胞周期, 从而引起肿瘤细胞的增殖、凋亡与分化. 故在钾离子通道阻断剂应用于肿瘤的治疗中发现, 4-氨基吡啶(人工合成的钾离子通道阻断剂), 能诱导HepG2人肝癌细胞凋亡, 能剂量依赖性地减少HepG2细胞的生长, 并证实了在HepG2细胞中, 4-氨基吡啶诱导的凋亡是由于

钙离子内流引起的, 而且在诱导肝细胞凋亡的机制中有钾离子通道的参与^[37]. 目前发现与肿瘤相关的钾离子通道有: 钙激活型、电压依赖型、内向整流型、ATP型、膨胀激活型钾离子通道等^[38]. 在肝细胞癌的研究中, 发现了中电导钙激活钾通道1(intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel-1, IKCa1)在人肝癌组织中过量表达, 运用其特异性阻断剂TRAM-34能够有效抑制人肝癌细胞株HePG2的增殖^[39]. 并有文献报道TRAM-34能够抑制肝癌细胞增殖不是通过细胞凋亡途径而是雌激素受体(estrogen receptor, ESR)mRNA的下调表达和核内转录因子(NF-KappaB)的活化减少引起的^[40], 故TRAM-34或许是一个新的肝癌治疗的药物. 另外, ATP型钾离子通道亚型1(Na^+/K^+ -ATPase-1)近年来被发现是一个新的抗癌靶点, 他在恶性肿瘤细胞的离子转运、新陈代谢、迁移和信号传导方面起着关键性作用^[41]. 在肝细胞癌中研究中就发现了其表达明显高于正常肝脏组织, 靶向性沉默掉 Na^+/K^+ -ATPase引起了肝癌细胞系HepG2细胞的凋亡和细胞周期停滞^[41], 这对肝细胞癌的治疗又提供了一个新的药物治疗点. 在肿瘤细胞的细胞内、外环境研究中发现, 为了使肿瘤细胞的高代谢顺利进行, 细胞需要自身调节胞内pH值, 形成偏碱的胞质环境, 这个过程通过离子通道完成: 胞内酸性代谢产物增多首先激活 Na^+/H^+ 交换体, 泵出胞内多余的 H^+ , Na^+ 同时入胞, 过量的 Na^+ 激活了 Na^+/K^+ ATP酶, 从而泵出多余的 Na^+ , K^+ 同时入胞, 这样胞内过量的 K^+ 又激活了钾离子通道, 促使 K^+ 外流. Pappas等^[42]发现钾离子通道阻滞剂可以导致细胞内酸化, 抑制细胞增殖, 从而证实了这个“级联过程”. 而在肝细胞癌的研究中, 有文献报道了电压门控型钾通道(voltage-gate K^+ channel)在肝癌细胞系H35的增殖和转移中起到了关键性的作用, 运用不同钾离子阻断剂均可抑制H35细胞的浸润和增殖, 这有可能是抑制了钾离子通道的同时减少了钙离子内流从而影响了电压门控型钾通道在肿瘤的细胞黏附和增殖中的作用, 整个机制可能是钙依赖性的^[43].

5 氯离子通道

1990年Jentsch等^[44]克隆了氯离子通道家族的第一个成员, 对氯离子通道的研究开始快速发展, 目前发现氯离子通道开放可调节膜静息电位稳定和电兴奋性、胞内ATP水解、容积调节、电

■ 相关报道

通过囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶亚型c(V-ATPase c)在肝细胞癌中的表达和功能的研究, 揭示了氢离子相关通道调节肝癌细胞内pH值的重要作用, 并为肝癌微酸环境治疗提供了靶向性, 对完善肝癌发病机制及药物治疗的研究有着十分重要的导向作用.

■创新盘点

本文以探寻肝细胞癌发生发展的机制为基础,系统概括了4种离子通道在肝细胞癌发生发展中扮演的不同角色和调节作用,揭示离子通道可作为靶点治疗的可行性。

介质转运、保持细胞内pH稳定^[45]。同时对细胞免疫应答、细胞增殖分化和转移、细胞凋亡等也具调节作用。在氯离子通道与肝癌的关系研究中发现:细胞内氯离子通道亚型1(chloride intracellular channel-1, CLIC1)广泛表达在众多人体组织中,并涉及调节细胞周期、增殖和分化。他在人肝细胞癌中异常高表达,并与肿瘤的大小、远处转移、病理分期、低生存率密切相关^[46],特别是在肝癌的淋巴转移过程中扮演了十分重要的角色^[47],这提示CLIC1在肝癌的诊断中可能是一个有价值的预后指标。钙激活性氯离子通道(calcium-regulated chloride conductances, CaCCs)的特点是细胞内钙离子增加激活的氯离子通道广泛存在于各种细胞中,在环孢菌素A(cyclosporine A, CsA)用于肝细胞癌治疗的机制研究中发现,应用环孢菌素A可以引起的肝癌细胞系HePG2的凋亡,这有可能是由钙激活性氯离子通道所介导的,同时根据实验数据显示提出了一个新的观点即:钙激活性氯离子通道所调节的肿瘤细胞凋亡与细胞内钙信号紊乱相关^[48]。我们知道,在肝细胞上,氯离子通道参与了细胞容量调节和胞内细胞器酸化。其中氯离子通道CIC-3(volume-activated chloride channel-3)表达广泛,虽然在功能、定位和特性还有某些程度上的争议,但在人肝癌细胞系Huh-7的研究中发现,CIC-3作为细胞内氯离子通道,大量定位在囊泡膜上与囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶(V-ATPase)共同完成氢离子和氯离子的流出,从而完成细胞器的酸化^[49],这对肝癌细胞的生存是至关重要的。而在他莫西芬(Tamoxifen)用于治疗肝癌机制的研究过程中发现^[50],在雌激素受体不依赖型的高转移肝癌细胞株MHCC97H中,他莫西芬通过调节容量激活性氯电流和细胞容积抑制了肿瘤细胞迁移。而CIC-3的特异性敲除也阻止了MHCC97H细胞的迁移,降低了容量激活性氯电流和细胞容积。因此,抑制氯离子通道或许是他莫西芬抗癌抑制转移的一个重要机制,同时也为肝癌的药物治疗提供另一个新的理论观点。

6 结论

就目前的研究进展而言,离子通道与肝细胞癌的关系可以简单概括为:不同的离子通道分别对膜电位、细胞周期、胞内钙离子浓度、胞质pH值及细胞体积等进行调节,从而影响肝癌细胞的增殖、凋亡和分化。同时,离子通道与肝癌细胞的转移、侵袭、肿瘤血管的形成也有一定

的关系。从上述的研究中,我们可以不断探寻离子通道在调节肝癌细胞生长发育中的作用、机制以及为治疗提供新的靶点,具有十分重要的科学意义和临床意义。

7 参考文献

- 1 Dworakowska B, Dołowy K. Ion channels-related diseases. *Acta Biochim Pol* 2000; 47: 685-703 [PMID: 11310970]
- 2 Le Guennec JY, Ouadid-Ahidouch H, Soriani O, Besson P, Ahidouch A, Vandier C. Voltage-gated ion channels, new targets in anti-cancer research. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2007; 2: 189-202 [PMID: 18221062 DOI: 10.2174/157489207782497244]
- 3 Fiske JL, Fomin VP, Brown ML, Duncan RL, Sikes RA. Voltage-sensitive ion channels and cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 493-500 [PMID: 17111226 DOI: 10.1007/s10555-006-9017-z]
- 4 Roger S, Potier M, Vandier C, Besson P, Le Guennec JY. Voltage-gated sodium channels: new targets in cancer therapy? *Curr Pharm Des* 2006; 12: 3681-3695 [PMID: 17073667 DOI: 10.2174/138161206778522047]
- 5 Pardo LA, Stühmer W. Eag1: an emerging oncological target. *Cancer Res* 2008; 68: 1611-1613 [PMID: 18339837 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5710]
- 6 Pardo LA, Contreras-Jurado C, Zientkowska M, Alves F, Stühmer W. Role of voltage-gated potassium channels in cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 115-124 [PMID: 16362499 DOI: 10.1007/s00232-005-0776-1]
- 7 Kunzelmann K. Ion channels and cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 159-173 [PMID: 16362504 DOI: 10.1007/s00232-005-0781-4]
- 8 Bödding M. TRP proteins and cancer. *Cell Signal* 2007; 19: 617-624 [PMID: 17029734 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.08.012]
- 9 Putnam RW. Intracellular pH regulation. In: *Cell Physiology Sourcebook: A Molecular Approach*. 3rd ed. Sperelakis N, editor. San Diego, CA: Academic, 2001: 357-376 [DOI: 10.1016/B978-012656976-6/50114-1]
- 10 Racker E. Bioenergetics and the problem of tumor growth. *Am Sci* 1972; 60: 56-63 [PMID: 4332766]
- 11 Gillies RJ, Liu Z, Bhujwala Z. 31P-MRS measurements of extracellular pH of tumors using 3-aminopropylphosphonate. *Am J Physiol* 1994; 267: C195-C203 [PMID: 8048479]
- 12 Griffiths JR. Are cancer cells acidic? *Br J Cancer* 1991; 64: 425-427 [PMID: 1911181 DOI: 10.1038/bjc.1991.326]
- 13 Raghunand N, Martínez-Zaguián R, Wright SH, Gillies RJ. pH and drug resistance. II. Turnover of acidic vesicles and resistance to weakly basic chemotherapeutic drugs. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 1047-1058 [PMID: 10796075 DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00021-0]
- 14 Gottlieb RA, Giesing HA, Zhu JY, Engler RL, Babior BM. Cell acidification in apoptosis: granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H(+)-ATPase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5965-5968 [PMID: 7541139 DOI: 10.1073/pnas.92.13.5965]

- 15 Gillies RJ, Martinez-Zaguilan R. Regulation of intracellular pH in BALB/c 3T3 cells. Bicarbonate raises pH via $\text{NaHCO}_3/\text{HCl}$ exchange and attenuates the activation of Na^+/H^+ exchange by serum. *J Biol Chem* 1991; 266: 1551-1556 [PMID: 1846359]
- 16 Luciani F, Spada M, De Milito A, Molinari A, Rivoltini L, Montinaro A, Marra M, Lugini L, Logozzi M, Lozupone F, Federici C, Iessi E, Parmiani G, Arancia G, Belardelli F, Fais S. Effect of proton pump inhibitor pretreatment on resistance of solid tumors to cytotoxic drugs. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1702-1713 [PMID: 15547183 DOI: 10.1093/jnci/djh305]
- 17 Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO_2 gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med* 1997; 3: 177-182 [PMID: 9018236 DOI: 10.1038/nm0297-177]
- 18 Martínez-Zaguilán R, Martínez GM, Gomez A, Hendrix MJ, Gillies RJ. Distinct regulation of pHin and $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ in human melanoma cells with different metastatic potential. *J Cell Physiol* 1998; 176: 196-205 [PMID: 9618159 DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199807)176:1<196::AID-JCP21>3.0.CO;2-4]
- 19 Schlappack OK, Zimmermann A, Hill RP. Glucose starvation and acidosis: effect on experimental metastatic potential, DNA content and MTX resistance of murine tumour cells. *Br J Cancer* 1991; 64: 663-670 [PMID: 1911214 DOI: 10.1038/bjc.1991.378]
- 20 Martínez-Zaguilán R, Raghunand N, Lynch RM, Bellamy W, Martinez GM, Rojas B, Smith D, Dalton WS, Gillies RJ. pH and drug resistance. I. Functional expression of plasmalemmal V-type H^+ -ATPase in drug-resistant human breast carcinoma cell lines. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 1037-1046 [PMID: 10796074 DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00022-2]
- 21 Thiebaut F, Currier SJ, Whitaker J, Haugland RP, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Activity of the multidrug transporter results in alkalinization of the cytosol: measurement of cytosolic pH by microinjection of a pH-sensitive dye. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 685-690 [PMID: 1692055 DOI: 10.1177/38.5.1692055]
- 22 Yeo M, Kim DK, Park HJ, Cho SW, Cheong JY, Lee KJ. Retraction: Blockage of intracellular proton extrusion with proton pump inhibitor induces apoptosis in gastric cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 185 [PMID: 17956591]
- 23 Xu J, Xie R, Liu X, Wen G, Jin H, Yu Z, Jiang Y, Zhao Z, Yang Y, Ji B, Dong H, Tuo B. Expression and functional role of vacuolar H^+ -ATPase in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2432-2440 [PMID: 22962303 DOI: 10.1093/carcin/bgs277]
- 24 Lu X, Qin W, Li J, Tan N, Pan D, Zhang H, Xie L, Yao G, Shu H, Yao M, Wan D, Gu J, Yang S. The growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma xenografts are inhibited by small interfering RNA targeting to the subunit ATP6L of proton pump. *Cancer Res* 2005; 65: 6843-6849 [PMID: 16061667 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3822]
- 25 Morgenlander JC, Goldstein LB. Recurrent transient ischemic attacks and stroke in association with an internal carotid artery web. *Stroke* 1991; 22: 94-98 [PMID: 1987677 DOI: 10.1007/s12032-009-9343-4]
- 26 Yang X, Wang D, Dong W, Song Z, Dou K. Suppression of Na^+/H^+ exchanger 1 by RNA interference or amiloride inhibits human hepatoma cell line SMMC-7721 cell invasion. *Med Oncol* 2011; 28: 385-390 [PMID: 20151228 DOI: 10.1007/s12032-010-9447-x]
- 27 Yang X, Wang D, Dong W, Song Z, Dou K. Expression and modulation of Na^+/H^+ exchanger 1 gene in hepatocellular carcinoma: A potential therapeutic target. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 364-370 [PMID: 21261728 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06382.x]
- 28 Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 11-21 [PMID: 11413485 DOI: 10.1038/35036035]
- 29 Li Y, Liu S, Lu F, Zhang T, Chen H, Wu S, Zhuang H. A role of functional T-type Ca^{2+} channel in hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Oncol Rep* 2009; 22: 1229-1235 [PMID: 19787244]
- 30 Kim JA, Kang YS, Lee SH, Lee YS. Inhibitors of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger prevent oxidant-induced intracellular Ca^{2+} increase and apoptosis in a human hepatoma cell line. *Free Radic Res* 2000; 33: 267-277 [PMID: 10993480 DOI: 10.1080/1071576000301431]
- 31 DeCoursey TE, Chandy KG, Gupta S, Cahalan MD. Voltage-gated K^+ channels in human T lymphocytes: a role in mitogenesis? *Nature* 1984; 307: 465-468 [PMID: 6320007 DOI: 10.1038/307465a0]
- 32 Ouadid-Ahidouch H, Ahidouch A. K^+ channel expression in human breast cancer cells: involvement in cell cycle regulation and carcinogenesis. *J Membr Biol* 2008; 221: 1-6 [PMID: 18060344 DOI: 10.1007/s00232-007-9080-6]
- 33 Nilius B, Wohlrab W. Potassium channels and regulation of proliferation of human melanoma cells. *J Physiol* 1992; 445: 537-548 [PMID: 1323670]
- 34 Parihar AS, Coghlan MJ, Gopalakrishnan M, Shieh CC. Effects of intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel modulators on human prostate cancer cell proliferation. *Eur J Pharmacol* 2003; 471: 157-164 [PMID: 12826234 DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01825-9]
- 35 Pardo LA. Voltage-gated potassium channels in cell proliferation. *Physiology (Bethesda)* 2004; 19: 285-292 [PMID: 15381757 DOI: 10.1152/physiol.00011.2004]
- 36 Wonderlin WF, Strobl JS. Potassium channels, proliferation and G1 progression. *J Membr Biol* 1996; 154: 91-107 [PMID: 8929284 DOI: 10.1007/s002329900135]
- 37 Kim JA, Kang YS, Jung MW, Kang GH, Lee SH, Lee YS. Ca^{2+} influx mediates apoptosis induced by 4-aminopyridine, a K^+ channel blocker, in HepG2 human hepatoblastoma cells. *Pharmacology* 2000; 60: 74-81 [PMID: 10657756]
- 38 Wang Z. Role of K^+ channels in regulating tumour cell proliferation and apoptosis. *Pflugers Arch* 2004; 448: 274-286 [DOI: 10.1007/s00424-004-1258-5]
- 39 Yang XW, Liu JW, Zhang RC, Yin Q, Shen WZ, Yi JL. Inhibitory effects of blockage of intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels on proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2013; 33: 86-89 [PMID: 23392713 DOI: 10.1007/s11596-013-1076-0]
- 40 Freise C, Ruehl M, Seehofer D, Hoyer J, Somasundaram R. The inhibitor of Ca^{2+} -dependent K^+ channels TRAM-34 blocks growth of hepatocellular carcinoma cells via downregulation of estrogen receptor alpha mRNA and nuclear factor-kappaB.

■应用要点

通过对肝细胞癌的细胞分子机制的研究,揭示了离子通道与肝细胞癌发生发展的密切关联,为肝细胞癌的临床药物治疗提供靶点,有着十分重要的科学意义和临床意义。

■同行评价

本文具有一定指导意义。

- Invest New Drugs* 2013; 31: 452-457 [PMID: 23054207 DOI: 10.1007/s10637-012-9879-6]
- 41 Xu ZW, Wang FM, Gao MJ, Chen XY, Hu WL, Xu RC. Targeting the Na(+)/K(+)-ATPase alpha1 subunit of hepatoma HepG2 cell line to induce apoptosis and cell cycle arresting. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 743-751 [PMID: 20460749]
- 42 Pappas CA, Ullrich N, Sontheimer H. Reduction of glial proliferation by K⁺ channel blockers is mediated by changes in pH_i. *Neuroreport* 1994; 6: 193-196 [PMID: 7703413]
- 43 Zhou Q, Kwan HY, Chan HC, Jiang JL, Tam SC, Yao X. Blockage of voltage-gated K⁺ channels inhibits adhesion and proliferation of hepatocarcinoma cells. *Int J Mol Med* 2003; 11: 261-266 [PMID: 12525889]
- 44 Jentsch TJ, Friedrich T, Schriever A, Yamada H. The CLC chloride channel family. *Pflugers Arch* 1999; 437: 783-795 [PMID: 10370055]
- 45 Jentsch TJ, Stein V, Weinreich F, Zdebik AA. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev* 2002; 82: 503-568 [PMID: 11917096]
- 46 Zhang S, Wang XM, Yin ZY, Zhao WX, Zhou JY, Zhao BX, Liu PG. Chloride intracellular channel 1 is overexpression in hepatic tumor and correlates with a poor prognosis. *APMIS* 2013 Apr 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23593969 DOI: 10.1111/apm.12093]
- 47 Li RK, Zhang J, Zhang YH, Li ML, Wang M, Tang JW. Chloride intracellular channel 1 is an important factor in the lymphatic metastasis of hepatocarcinoma. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 167-172 [PMID: 22440897 DOI: 10.1016/j.biopha.2011.10.002]
- 48 Kim JA, Kang YS, Lee YS. Role of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in the mechanism of apoptosis induced by cyclosporin A in a human hepatoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 291-297 [PMID: 12951048]
- 49 Li X, Wang T, Zhao Z, Weinman SA. The CIC-3 chloride channel promotes acidification of lysosomes in CHO-K1 and Huh-7 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C1483-C1491 [PMID: 11997263]
- 50 Mao J, Yuan J, Wang L, Zhang H, Jin X, Zhu J, Li H, Xu B, Chen L. Tamoxifen inhibits migration of estrogen receptor-negative hepatocellular carcinoma cells by blocking the swelling-activated chloride current. *J Cell Physiol* 2013; 228: 991-1001 [PMID: 23042559 DOI: 10.1002/jcp.24245]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



医用胶栓塞兔肝门静脉的效果

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石, 贵阳医学院附属医院放射科 贵州省贵阳市 550004

蒋天鹏, 副主任医师, 硕士, 主要从事外周介入治疗与临床的研究。

作者贡献分布: 蒋天鹏与王黎洲对此文所作贡献均等; 此课题由蒋天鹏, 王黎洲及周石设计; 研究过程由蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰及吴晓萍操作完成; 数据分析由蒋天鹏完成; 本论文写作由蒋天鹏与王黎洲完成。

通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院放射科. jittpp@sina.com

收稿日期: 2013-07-24 修回日期: 2013-08-30

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xin Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xin Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. jittpp@sina.com

Received: 2013-07-24 Revised: 2013-08-30

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the feasibility and efficacy of medical adhesive used as an embolic agent for portal vein embolization in rabbits.

METHODS: Twenty-six white rabbits were used in this study. In a preliminary experiment, 14 rabbits were randomly divided into 7 groups to perform embolization of portal branches by injecting 0.01 mL mixture of medical adhesive and lipiodol (ratio: 1:1 to 1:5, 1:0, and 0:1) via the portal trunk at a stable velocity. Subsequently, the remaining 12 rabbits were randomly divided into two groups to perform embolization of the first or second branch of the portal vein. Before and after the operation (from d1 to d14), hepatic and renal function was examined, CT and portal angiography were performed, and specimens were pathologically examined after the rabbits were sacrificed.

RESULTS: In the preliminary experiment, 1:1 and 1:2 ratios were associated with obvious wall adhesion, embolization from the trunk to the first branch of the portal vein, and severe reactions in rabbits; 1:3 ratio was associated with obvious wall adhesion, embolization from the first to second branches of the portal vein, and moderate reactions in rabbits; 1:4 and 1:5 ratios were associated with embolization no more than the second branch of the portal vein and mild reactions in rabbits, without obvious wall adhesion. For the 1:4 ratio, the volume of injected mixture was 0.15 mL via the trunk of the portal vein, 0.02 mL via the first branch, and 0.01 mL via the second branch. Portal angiography revealed that acute, complete embolism occurred in all ratios except the 0:1 ratio. Gaseous necrosis occurred 1 week after embolism, and embolic vessels remained occluded after 2 wk. Computer tomography (CT) revealed persistent presence of high-density shadow in occluded veins, and the density of the corresponding liver area gradually became low in 1-2 wk. Macroscopically, the changes were not obvious in the early stage, but the embolic regions swelled and became dark later. Microscopically, many levels of the portal vein were filled with the mixture and secondary thrombi. Hepatocyte necrosis and inflammatory cell infiltration were noted in the occluded area in the early stage, and inflammatory fibrotic hyperplasia occurred later. After the procedure, transient elevation of alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino-transferase (AST), blood urea nitrogen (BUN) and CER was found in all rabbits. ALT and AST rose on d1, reached the peak on d7, and returned to the initial levels on d14. BUN and CER rose on d1 and returned to the initial levels on d7.

CONCLUSION: Medical adhesive can be used as an effective and safe liquid embolic agent for portal vein embolization in rabbits.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Portal vein; Embolization; Medical adhesive; Animal; Experimental

■背景资料

门静脉栓塞术(port vein embolization, PVE)主要用于原发性或转移性肝癌的术前栓塞或非手术患者行姑息性肝动脉门静脉联合化疗。对栓塞材料的研究,是获得良好的门静脉栓塞效果的关键。

■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

■ 研发前沿

本实验将医用胶与超液态碘油与按不同比例配制的混合剂作为液体栓塞剂, 选择性栓塞兔门静脉主干或分支, 探讨医用胶在兔门静脉栓塞中的可行性及有效性, 为其在临床应用提供实验依据。

Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S. Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3047-3052 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3047>

摘要

目的: 探讨医用胶在兔肝门静脉栓塞中的可行性及有效性。

方法: 26只大白兔, 先取14只随机分7组, 每组2只, 将医用胶与超液化碘油分别按1:0、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、0:1比例配置, 于门静脉主干内, 按固定总量, 匀速、缓慢推注, 观测黏管程度、栓塞范围及兔反应等。再取12只, 随机分为2组, 每组6只, 按最佳预实验数据结果栓塞兔门静脉一级、二级分支, 栓前及栓后第1、7、14天分别查肝、肾功能, 栓后行血管造影、CT扫描及病理学检查。

结果: 预实验中, 总量0.01 mL栓塞剂注入兔肝门静脉主干后, 纯胶组门静脉主干即刻闭塞, 导管黏附于血管, 兔很快死亡; 1:1组及1:2组易黏管, 栓塞区域主要为门静脉主干-一级分支, 兔反应较重; 1:3组不易黏管, 栓塞区域为门静脉一级-二级分支, 兔反应一般-明显; 1:4组及1:5组不易黏管, 栓塞区域主要为门静脉二级分支及以下, 兔反应较轻; 纯碘油组不黏管, 栓塞区域主要为门静脉二级分支以下, 兔基本无栓塞反应。栓塞剂总量: 兔门静脉主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右。门静脉造影: 所有组均可见相应血管的急性、完全性闭塞, 闭塞率为100%, 2 wk内复查除纯碘油组外未见明显再通。CT扫描: 栓塞胶后相应门静脉血管内铸型高密度影持续存在, 栓塞区肝脏密度逐渐降低, 并可见点状积影。组织学检查, 肉眼观察: 栓塞后局部肿胀变暗。光镜示: 门静脉血管内栓塞剂并继发血栓形成持续存在, 栓塞区肝脏组织坏死; 早期不同程度的炎症细胞浸润, 后期炎性纤维组织增生。丙氨酸转氨酶、谷草转氨酶于栓后1 d开始升高, 7 d达高峰, 14 d降至正常; 血尿素氮、CER于栓后1 d开始上升, 至7 d已降至正常。

结论: 医用胶是一种有效、安全、良好的兔肝门静脉液体栓塞剂, 可以选择性栓塞兔门静脉主干及一、二级分支, 栓塞效果较好, 价格低廉且制备容易, 值得临床进一步研究。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 门静脉; 栓塞; 医用胶; 动物; 实验性

核心提示: 医用胶与超液化碘油混合时, 超液化碘油既可稀释医用胶, 又可使其在透视下显影, 在栓塞过程中可密切监视栓塞情况。通过栓塞前后门静脉造影图像对比, 我们可发现医用胶的浓度越大, 栓塞的门静脉分支越大, 但浓度越大发生黏管及返流的风险亦相应增加, 实验结果证实血管内栓塞效果良好, 未见明显再通。一般门静脉栓塞浓度最好<1:3, 推荐选择浓度为1:4-1:5更易控制。

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石. 医用胶栓塞兔肝门静脉的效果. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3047-3052 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3047>

0 引言

门静脉栓塞术(port vein embolization, PVE)主要用于原发性或转移性肝癌的术前栓塞或非手术患者行姑息性肝动脉门静脉联合化疗。对栓塞材料的研究, 是获得良好的门静脉栓塞效果的关键。目前国内外常用的门静脉栓塞剂有: 无水乙醇、明胶海绵颗粒、弹簧圈、白芨胶等。无水乙醇作用部位主要为末梢血管, 大血管继发性闭塞^[1,2], 是一种良好的血管栓塞剂和组织坏死剂, 但易返流且剂量不易控制, 极易误栓。而其他一些常见黏性液体栓塞剂容易黏管, 常引起血管损伤, 并发症多、风险大; 且常有血管毒性, 部分甚至可致癌; ONIX胶需专用导管, 价格昂贵; 以上种种情况制约了其在临床的广泛应用。医用胶具有黏接强度大、扩散性能好、聚合热低、白化现象轻、聚合体韧性好等特点, 并且性能稳定, 无毒, 无致畸、致癌等毒性^[3], 价格相对低廉, 可配合适当比例的超液态碘油, 具备了作为血管内栓塞剂的初步条件。国内目前已有使用医用胶栓塞犬的肠系膜及胃网膜静脉支血管的实验研究, 尚未见用于门静脉栓塞的研究报导。本实验将医用胶与超液态碘油与按不同比例配制的混合剂作为液体栓塞剂, 选择性栓塞兔门静脉主干或分支, 探讨医用胶在兔肝门静脉栓塞中的可行性及有效性, 为其在临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康大白兔22只, 体质量、兔龄均相仿、雌雄不限(贵阳医学院动物实验中心提供)。改制的18G血管穿刺针, 改制的2.7F同轴微导管系统(微导管及微导丝), 颈静脉切开包, 1、5、

表 1 按不同比例分组配置的医用胶于门静脉主干推注的情况

分组	黏管程度	分布区域	血管再通情况	兔机体反应
纯胶组	黏管, 且紧密	主干	无	死亡
1:1组	极易黏管, 且紧密	主干	无	较重, 易死亡
1:2组	黏管, 但不紧	主干、一级分支	无	较重
1:3组	稍黏管	一级-二级分支	无	一般-明显
1:4组	不易黏	一级-二级分支	无	较轻-一般
1:5组	不易黏	二级分支及以下	无	较轻
纯碘油组	不黏	二级分支以下	有	极轻微

■ 相关报道

医用胶价格相对低廉, 可配合适当比例的超液态碘油, 具备作为血管内栓塞剂的初步条件。国内目前已有使用医用胶栓塞犬的肠细膜及胃网膜静脉支血管的实验研究, 尚未见用于门静脉栓塞的研究报导。

10 mL注射器。德国SIEMENS AXIOM Artis型数字减影血管造影机, 美国GE Hispeed/ I 型CT机, 石蜡切片机, 光学显微镜, 多媒体彩色病理图文分析系统。涂抹型医用胶, 规格: 0.5 mL/套, 批号: 20070829; 超液化碘油注射液, 规格: 10 mL, 批号: 06LU006A; 碘普罗胺注射液370, 规格: 100 mL: 37 g/L, 批号: 1000367; 盐酸氯胺酮注射液, 规格2 mL: 0.1 g, 批号: KH070401; 肝素钠注射液, 规格2 mL: 1.25万单位。

1.2 方法

1.2.1 预实验: 取14只大白兔随机分为7组, 每组2只, 将医用胶与超液化碘油分别按1:0、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、0:1比例配置后(以下简称纯胶组、1:1组、1:2组、1:3组、1:4组、1:5组、纯碘油组), 将微导管头端置于门静脉主干处, 按固定总量、匀速、缓慢推注, 观测栓塞剂大致聚合时间、黏管程度、分布范围等。

1.2.2 正式实验: 取12只大白兔, 按门静脉一级、二级分支血管为靶血管, 随机分为2组, 每组6只, 按预实验获得的数据, 将医用胶与超液化碘油按固定的比例(1:4)及速度, 分别行血管栓塞。

1.2.3 手术: (1)术前准备: 所有兔术前禁食, 仰卧固定于手术台上, 用氯胺酮1 mL+NS 5 mL经耳缘静脉注入麻醉, 然后再予氯胺酮2 mL+5%GS 150 mL持续静脉滴注维持^[4,5], 于腹部剑突下备皮, 常规消毒铺巾; (2)动脉插管: 再次消毒皮肤后逐层切开腹壁, 暴露门静脉主干, 以穿刺针直接穿刺门静脉主干后, 引入微导管于门静脉主干行门静脉造影; 再在微导丝的配合下, 超选择性插管至门静脉分支内; (3)栓塞: 插管到位后用固定比例配置的医用胶与超液化碘油乳剂以恒定速度注入, 在透视下严密监视, 严防栓塞剂返流。栓塞结束后用5%葡萄糖水冲管, 将微导管退至门静脉主干, 再次行门静脉血管造影证实

栓塞效果; (4)术后即刻、1、2 wk每组各取2只行血管造影及CT扫描后, 分批处死兔, 取出肝脏观察大体标本, 然后以40 g/L甲醛固定, 送组织切片(HE染色)行病理学检查观察肝脏细胞坏死情况及门静脉血管栓塞情况。栓塞前麻醉后抽兔耳缘静脉血查兔血基础肝、肾功能, 术后1、7、14 d复查血肝、肾功能。

统计学处理 使用SPSS11.5统计软件, 配对t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 预实验结果 总量0.01 mL栓塞剂于门静脉主干按不同比例分组推注情况见(表1)。根据兔体型及兔门静脉血流速度较慢的特点, 发现兔门静脉栓塞所需栓塞剂量如下: 主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右。栓塞总体速度要很慢, 要在透视监护下缓慢进行, 不可过快。浓度越高者(1:1组-1:2组), 由于栓塞黏滞程度大, 栓塞时阻力大, 越易因用力过大而出现返流误栓非靶血管, 更需注意; 而浓度较稀者(1:4组-1:5组), 一般不易返流, 较容易控制。

2.2 正式实验结果 根据预实验结果: 本实验选择浓度适宜、不易黏管的1:4比例行栓塞, 同时由于栓塞门静脉主干后兔反应重, 易死亡, 后超选择性插管后栓塞门静脉一级、二级分支。门静脉一级分支栓塞剂用量约为0.02 mL, 二级分支栓塞剂用量约为0.01 mL。共用兔12只, 栓塞门静脉一级组6只, 栓塞门静脉二级组6只, 所有兔均成功栓塞, 成功率100%。

2.2.1 门静脉造影: 所有靶血管均急性、完全性闭塞, 闭塞率为100%。栓塞后即刻、1、2 wk复查除纯碘油组未见明显再通(图1)。

2.2.2 CT扫描: 栓塞后急行CT常规扫描可见相应靶血管内铸型高密度影, 相应供血部位肝组织

■创新盘点

该项研究整体来看有新意,实验设计合理,医用胶作为血管栓塞剂已经用于临床,但其弊端,如黏管性令人担忧,本作者将医用胶用于门静脉栓塞,并与超液化碘油以适当比例混合,既减少黏管性,又可达到栓塞结果,并可在透视下监测。

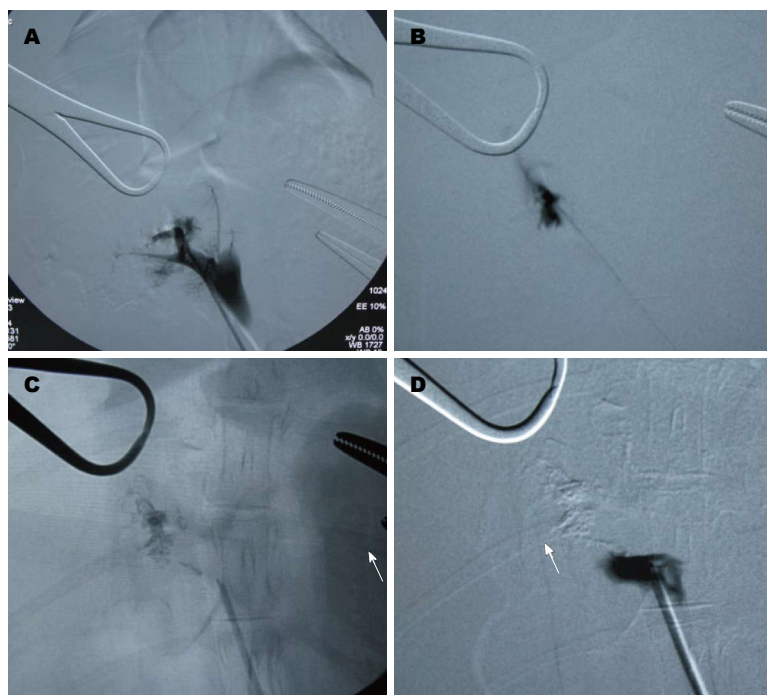


图1 肝门静脉造影图. A: 门静脉血管,微导管头端位于二级门静脉分支内; B: 门静脉二级分支血管; C: 门静脉二级分支栓塞后,其内透视可见铸型高密度栓塞剂影; D: 门静脉二级分支栓塞后,可见靶血管及其分支完全闭塞,造影剂返流。

表2 医用胶栓塞兔子肝门静脉前后肝肾功能的情况

肝肾功能项目	栓塞前	栓塞后1 d	栓塞后7 d	栓塞后14 d
ALT(U/L)	35.10 ± 1.10	64.30 ± 7.60	295.50 ± 19.40	37.29 ± 1.56
AST(U/L)	46.30 ± 2.40	67.60 ± 6.30	182.70 ± 10.60 ^a	47.45 ± 1.98
BUN(mmol/L)	8.00 ± 1.46	10.25 ± 1.97	8.52 ± 1.85	8.37 ± 1.65
Cr(μmol/L)	94.50 ± 2.14	101.36 ± 2.86	97.28 ± 2.36	95.32 ± 2.25

^a $P < 0.05$ vs 栓塞前。

密度降低不明显。栓塞后一段时间后复查示: 门静脉内铸型高密度影持续存在, 相应供血部位肝组织密度明显降低, 并可见气体密度影。

2.2.3 组织学检查: 肉眼观察: 栓塞后早期改变不明显, 其后局部组织逐渐肿胀, 色泽变暗。光镜下观察: 早期可见多级门静脉及部分中央静脉内碘化油及福爱乐医用胶混合栓塞物并继发血栓形成, 栓塞区肝脏组织坏死, 肝细胞水肿, 胞浆疏松; 早期栓塞区周围炎症反应不明显, 其后可见不同程度的炎症细胞浸润, 2 wk后可见炎性纤维组织增生; 血管内持续可见大量碘化油及医用胶混合物并继发血栓形成, 未见明显血管再通。

2.2.4 医用胶栓塞兔子肝门静脉前后肝肾功能的变化: 本组肝肾功能检查提示栓塞后1 d开始出现肝功能损害, 7 d时达到高峰, 而14 d时接近基础肝功能, 本组肾功能损伤较轻且很快恢复正常(表2)。

3 讨论

门静脉插管栓塞主要用于原发性或转移性肝癌的外科术前栓塞或非手术病例行姑息性肝动脉和门静脉联合化疗栓塞术^[6-10]。对于术前栓塞的患者, 栓塞部分门静脉分支后, 可使病变区肝脏组织萎缩, 瘤体缩小, 且非栓塞区肝脏组织性增生, 从而扩大了手术切除的范围与适应症; 还可避免术中门静脉压力下降致肝组织灌注不足发生急性肝细胞损害或术后过度增生导致的代谢异常, 提高手术耐受程度, 减少术后并发症的发生率^[11,12]; 对于非外科手术治疗患者, 一方面较大原发性肝癌病灶周围常为门静脉供血; 而转移行肝癌则多由门静脉供血; 单纯行肝动脉化疗栓塞的效果较差, 且术后更容易转移和复发。因此, 对肝脏肿瘤行肝动脉与门静脉联合化疗栓塞术不仅能够更彻底的治疗肝内肿瘤病灶, 还可防止和减少肿瘤的复发及转移机会, 同时还可兼顾门静脉内癌栓的治疗。

医用胶最早是1978年由田霞和卢永顺等利用高碳酯可以改变低碳酯的性能的特点, 用 α -氰基丙烯酸正辛酯(N-octyl- α -Cyanoacrylate, NOCA)改变 α -氰基丙烯酸正丁酯(n-butyl- α -cyanoacrylate, NBCA)的性能发明而成. 其成分99%以上的为 α -氰基丙烯酸甲氧基乙酯、 α -氰基丙烯酸正辛酯、 α -氰基丙烯酸正丁酯. 广泛用于术中止血、黏合、封闭、栓塞堵漏. 西安交通大学附属第二医院对用医用胶栓塞16条犬的肠系膜及胃网膜的静脉支进行病理观察, 发现1-4 d出现无菌性炎性反应, 1 wk减轻, 2 wk明显减轻, 静脉内膜增生组织向管腔内伸展, 将胶分割包围; 3 wk后管壁纤维化, 小静脉管腔呈纤维性闭塞, 较大的静脉腔内仍残存被纤维组织包围的医用胶碎片, 最长观察1年, 属于永久性闭塞.

医用胶主要成分为NOCA、NBCA, 目前上述两种医用胶作为血管内栓塞剂已在临床应用, 但均有明显的黏附性, 微导管有黏附于血管的危险, 而且聚合时会放出热量. 我们通过预实验表明只要其与超液化碘油配比的浓度和注射速度适当, 即可避免黏管, 达到重复注射栓塞血管的目的. 与ONYX胶等非黏性液体栓塞剂相比, 医用胶有可通过普通导管注射的优点; 与无水乙醇相比医用胶可根据不同浓度配置栓塞不同级别的靶血管, 而无水乙醇等只能栓塞末梢血管. 因而, 医用胶作为液体栓塞剂, 是完全可行的.

本组肝肾功能检查提示: 栓塞后1 d开始出现肝功能损害, 7 d时达到高峰, 而14 d时接近基础肝功能, 与国内报道门静脉栓塞后肝功能改变情况基本一致. 董宝玮等^[13]行大鼠门静脉栓塞后亦发现: 栓塞后1 d肝转氨酶开始升高, 1 wk后开始下降, 2 wk时基本接近正常. 国内万智勇等^[14]用白芨微球及无水乙醇栓塞兔门静脉后行肝功能检查示一般栓塞后1 d开始出现肝功能损害, 5 d左右达到高峰, 而2 wk后一般均可回复正常. 吴晓凤等^[15]用DTH胶对大鼠行选择性门静脉栓塞后认为: 栓塞后肝功能呈一过性改变, 表现为术后1 d转氨酶(ALT、AST)升高, 第3天开始下降, 第14天回复正常; 董宝玮等^[13]用NBCA栓塞大鼠门静脉后认为: 栓塞后1 d肝转氨酶开始升高, 1 wk后开始下行大鼠门静脉栓塞后亦发现: 栓塞后1 d肝转氨酶开始升高, 1 wk后开始下降, 2 wk时基本接近正常. 本组肾功能损伤较轻且很快恢复, 不排除系造影剂的肾毒性作用所致.

万智勇等^[14]认为: 只要注意控制栓塞的范围, 一般不超过3个肝段, 门静脉栓塞一般均安全. 本组观察兔饮食、体力、活动等一般情况, 仅栓塞后1 d稍差, 其后均较正常. 在实验早期曾发生兔死亡, 其原因如下: (1)麻醉过深导致死亡; (2)栓后止血不完全致持续腹腔内出血死亡; (3)早期栓塞时剂量过大导致门静脉主干急性完全闭塞而死亡, 后期行相应调整后未再出现类似情况. 故只要解决好麻醉、止血及控制栓塞范围等细节, 兔门静脉栓塞是安全的.

由于医用胶在37℃的水中, 由亲水状态转变为疏水状态的时间很短, 所以在注射栓塞剂时需要掌握一定的技巧, 以防栓塞剂在输送微导管内过早沉淀而堵塞微导管, 影响手术的进行. 我们总结体外模拟栓塞实验及早期预实验的经验, 采用以下操作方法: (1)在注射前用适量生理盐水冲洗微导管内腔, 尽量降低微导管壁及腔内的温度, 尽可能地延长共聚物在微导管腔内的相转变时间; (2)在注射前后及时予适量5%GS冲洗微导管内腔, 以防止栓塞剂在微导管内或导管口周围沉淀, 引起导管堵塞或导管黏附于血管壁上; (3)栓塞时要注意控制栓塞剂总量, 一般栓塞剂总量: 兔门静脉主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右. 栓塞剂量由少逐渐增多, 宁少勿多, 可逐步增加, 多次栓塞, 避免一次用量过大, 误栓塞其他血管或黏管; (4)栓塞时要注意控制不同配置比例栓塞剂的推注速度, 一般均采用1 mL的注射器, 总体速度要很慢, 在透视监护下缓慢进行, 宁愿一次不足, 再重复补充, 不可过快; 防止返流, 误栓非靶血管. 尤其高浓度组栓塞剂黏滞度大, 栓塞时阻力大, 越易用力过大而出现返流误栓非靶血管; (5)栓塞全程在透视下进行; (6)栓塞完后及时造影, 防止栓塞不充分; (7)注意尽量减少动物实验损伤, 掌握兔门静脉解剖位置, 一般腹壁切口长约3-4 cm即可, 必要时延长切口; 术前禁食, 减小胃腔容积, 一方面减少麻醉风险, 另一方面更易翻转胃及相应肠道, 暴露门静脉; (8)术中减少门静脉穿刺次数. 尽量一次前壁穿刺成功, 实验过程中注意保持导管及针位置, 避免损伤门静脉血管壁或滑脱而需再次穿刺, 加重创伤并不易止血. 拔管后压迫数分钟, 一般能止血, 必要时予适量医用胶涂抹穿刺点并周围留置明胶海绵; (9)术中注意无菌操作, 严格消毒, 腹壁切口逐层缝合, 并予绷带包扎, 减

■应用要点

医用胶通过与超液化碘油按不同比例配比后(推荐1:3-1:5), 控制栓塞剂总量(门静脉主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右), 利用超选择性插管技术, 可以选择性栓塞门静脉主干及一、二级分支, 其栓塞效果较好.

同行评价

本文出发点很好, 具有一定的新颖性, 具有一定指导意义。

少感染机会, 必要时饮食中加抗生素。

我们的经验是: 医用胶与超液化碘油混合时, 超液化碘油既可稀释医用胶, 又可使其在透视下显影, 在栓塞过程中可密切监视栓塞情况。通过栓塞前后门静脉造影图像对比, 我们可发现医用胶的浓度越大, 栓塞的门静脉分支越大, 但浓度越大发生黏管及返流的风险亦相应增加, 实验结果证实血管内栓塞效果良好, 未见明显再通。故一般门静脉栓塞浓度最好 $<1:3$, 推荐选择浓度为 $1:4-1:5$ 更易控制。而浓度再稀时, 虽可使聚合时间延长, 操作时间更加充裕; 但浓度过稀, 可能影响持久栓塞效果。

总之, 医用胶是一种有效、安全、良好的兔门静脉液体栓塞剂, 通过与超液化碘油按不同比例配比后(推荐 $1:3-1:5$), 控制栓塞剂总量(门静脉主干约 0.15 mL 左右, 一级分支约 0.02 mL 左右, 二级分支约 0.01 mL 左右), 利用超选择性插管技术, 可以选择性栓塞门静脉主干及一、二级分支, 其栓塞效果较好, 且价格低廉, 制备容易, 值得临床进一步研究。

参考文献

- Jungreis CA. Skull-base tumors: ethanol embolization of the cavernous carotid artery. *Radiology* 1991; 181: 741-743 [PMID: 1947090]
- Sadato A, Numaguchi Y, Taki W, Iwata H, Yamashita K. Nonadhesive liquid embolic agent: role of its components in histologic changes in embolized arteries. *Acad Radiol* 1998; 5: 198-206 [PMID: 9522886 DOI: 10.1016/S1076-6332(98)80284-5]
- 夏穗生, 田霞, 卢永顺. 新一代喷涂型福爱乐医用胶. *临床外科杂志* 2003; 11: 120-121
- 郑占乐, 潘进社, 马利杰, 郝立净. 实验兔血管外科手术不同麻醉药物的比较. *河北医科大学学报* 2008; 29: 384-387
- 李尧清, 杨小玲, 秦建琼, 田英. 氯胺酮在实验动物麻醉中的应用分析. *上海实验动物科学* 2001; 21: 169-170
- Mao G, Yu Z, Zhang Y, Cheng J. Combined transcatheter arterial chemoembolization and beta-ultrasound guided portal vein embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2002; 24: 391-393 [PMID: 12408773]
- Bartolozzi C, Lencioni R, Caramella D, Vignali C, Cioni R, Mazzeo S, Carrai M, Maltinti G, Capria A, Conte PF. Treatment of large HCC: transcatheter arterial chemoembolization combined with percutaneous ethanol injection versus repeated transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 1995; 197: 812-818 [PMID: 7480761]
- Kamada K, Kitamoto M, Aikata H, Kawakami Y, Kono H, Imamura M, Nakanishi T, Chayama K. Combination of transcatheter arterial chemoembolization using cisplatin-lipiodol suspension and percutaneous ethanol injection for treatment of advanced small hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 2002; 184: 284-290 [PMID: 12354601 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)00933-9]
- Tanaka H, Hirohashi K, Kubo S, Shuto T, Higaki I, Kinoshita H. Preoperative portal vein embolization improves prognosis after right hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with impaired hepatic function. *Br J Surg* 2000; 87: 879-882 [PMID: 10931022 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01438.x]
- Inaba S, Takada T, Amano H, Yoshida M, Yamakawa Y, Yasuda H, Takada Y, Takeshita K, Koutake H, Takada K, Furui S, Hijikata H, Takada K. Combination of preoperative embolization of the right portal vein and hepatic artery prior to major hepatectomy in high-risk patients: a preliminary report. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1077-1081 [PMID: 11020883]
- 刘海, 彭永红, 杨作衡, 王国雄, 汤鹏. 术前门静脉栓塞提高肝癌手术切除率. *中华普通外科杂志* 2004; 9: 583
- 嵇武, 马宽生, 董家鸿, 黄晓兰, 何振平. 术前选择性门静脉栓塞在肝癌二期切除中的应用. *中华肝胆外科杂志* 2003; 348-350
- 董宝玮, 梁萍, 罗渝昆, 于晓玲, 苏莉, 于德江. 大鼠门静脉穿刺 α -氰基丙烯酸正丁酯栓塞的实验研究. *中华超声影像学杂志* 2001; 10: 494-497
- 万智勇, 冯敢生, 梁惠民, 郑传胜, 张贵祥, 缪竟陶. 白芨微球与无水乙醇行兔门静脉栓塞的实验研究. *临床放射学杂志* 2004; 23: 908-912
- 吴晓风, 樊嘉, 林芷英, 纪元. 大鼠选择性门静脉栓塞的实验研究. *中国微循环* 2000; 4: 218-220

编辑 田滢 电编 鲁亚静



shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福, 遵义医学院生化教研室 贵州省遵义市 563099

范芳, 副教授, 主要从事肿瘤分子生物学的研究.

贵州省科技基金资助项目, No. [2009]3066

遵义市红花岗区科技基金资助项目, No. (2009)18

作者贡献分布: 课题由范芳与耿磊设计; 研究过程由范芳、耿磊及李大玉完成; 研究试剂由李大玉提供; 数据分析由范芳、耿磊及李长福完成; 论文写作由范芳与耿磊完成.

通讯作者: 范芳, 副教授, 563099, 贵州省遵义市大连路201号, 遵义医学院生化教研室. fanf1970@126.com

电话: 0852-8609445

收稿日期: 2013-07-24 修回日期: 2013-08-09

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

ShRNA-mediated MRE11 gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU

Fang Fan, Lei Geng, Da-Yu Li, Chang-Fu Li

Fang Fan, Lei Geng, Da-Yu Li, Chang-Fu Li, Department of Biochemistry, Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Guizhou Province, No. [2009]3066; and the Foundation of Science and Technology Bureau of Zunyi, No. (2009)18

Correspondence to: Fang Fan, Associate Professor, Department of Biochemistry, Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. fanf1970@126.com

Received: 2013-07-24 Revised: 2013-08-09

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of shRNA-mediated MRE11 gene silencing on cell proliferation and apoptosis in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU.

METHODS: A shRNA targeting the MRE11 gene was transiently transfected into BEL7402/5-FU cells using cathodolyte liposomes. Silencing efficiency was assessed using Real-time PCR and Western blot. The protein expression of γ -H2AX was detected by Western blot. Cellular DNA synthesis was detected by EdU. Cell proliferation was assessed by MTT assay.

RESULTS: Real-time PCR and Western blot results showed that the efficiency of RNA interference for MRE11 was 78.0% at the mRNA level and 56.1% at the protein level. Western blot analysis demonstrated that γ -H2AX expression was significantly higher in the shMRE11 group than in the control group (1.04 ± 0.056 vs 0.847 ± 0.025 , $P < 0.05$, $t = 10.78$). DNA synthesis was significantly decreased in the shMRE11 group compared with the control group (38.819 ± 2.607 vs 49.814 ± 1.227 , $P < 0.05$, $t = -8.87$). The proliferation rate was significantly lower in the shMRE11 group than in the control group (0.58 ± 0.08 vs 0.87 ± 0.09 , $P < 0.05$, $t = -50.2$).

CONCLUSION: ShRNA-mediated MRE11 gene silencing effectively inhibit DNA repair and proliferation of BEL7402/5-FU cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MRE11; RNA interference; BEL7402/5-FU; Cell proliferation; Apoptosis

Fan F, Geng L, Li DY, Li CF. ShRNA-mediated MRE11 gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3053-3058 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3053.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3053>

摘要

目的: 观察shMRE11沉默MRE11基因对肝癌耐药细胞Bel7402/5-FU DNA损伤修复功能的影响.

方法: 采用阳离子脂质体法将shMRE11干扰质粒转染BEL7402/5-FU细胞, Real-time PCR及Western blot检测沉默效率; Western blot检测细胞 γ -H2AX蛋白表达; EdU法检测细胞DNA合成; MTT法检测细胞增殖情况.

结果: Real-time PCR及Western blot检测结果显示MRE11 mRNA及蛋白水平的沉默效

■背景资料

原发性肝癌是我国最常见也是公认危害最大的恶性肿瘤之一, 其发病率及死亡率非常高. 肝癌的高复发率、低切除率决定了化疗在综合治疗中的重要地位, 但易产生多药耐药. 肿瘤的耐药性已成为肿瘤有效治疗的一大难题, 不仅大大降低了化疗效果, 而且有可能导致肿瘤的转移, 使肿瘤进一步恶化.

■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■ 研究前沿

肿瘤产生多药耐药的机制复杂,是患者机体本身和肿瘤细胞恶性程度及肿瘤生长微环境等在不同的生理及病理状态下多种因素共同存在、共同作用的结果。DNA一直是肿瘤治疗的重要靶点,DNA损伤的自我修复机制增强可导致肿瘤细胞产生耐药性。如何诱导肿瘤细胞DNA损伤,阻止DNA损伤的修复,进而使肿瘤细胞凋亡与坏死,是肿瘤治疗研究中的重点。

率分别为78.0%、56.1%; Western blot检测 γ -H2AX表达结果显示shMRE11实验组(1.04 ± 0.056)较对照组(0.847 ± 0.025)增加($P < 0.05$, $t = 10.78$); EdU检测结果显示shMRE11实验组DNA合成率(38.819 ± 2.607)较对照组(49.814 ± 1.227)降低($P < 0.05$, $t = -8.87$); MTT细胞增殖检测结果显示转染72 h后shMRE11实验组(0.58 ± 0.08)与对照组(0.87 ± 0.09)相比细胞增殖速度减慢($P < 0.05$, $t = -50.2$)。

结论: shMRE11干扰质粒能够有效抑制BEL7402/5-FU细胞中MRE11表达,使细胞DNA损伤修复能力减弱、抑制细胞增殖。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 减数分裂重组蛋白11; RNA干扰; BEL7402/5-FU; DNA损伤修复;

核心提示: 转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒能增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤,使DNA损伤修复功能减弱,增加药物对细胞的损伤程度;对细胞的生物学行为产生影响,使细胞增殖速度减慢,MRE11的沉默能够降低BEL7402/5-FU细胞的耐药性。

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福. shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3053-3058 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3053.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3053>

0 引言

原发性肝癌是临床常见的恶性肿瘤之一,其发病机制和病因尚不明确。DNA双链断裂(double-stranded breaks, DSBs)是细胞最严重的一种损伤,可导致细胞失去分裂增殖能力而死亡,是抗癌药物致肿瘤细胞死亡主要机制。Meiotic recombination 11(MRE11)是参与DNA损伤修复的MRN复合物的重要组分,在DSBs修复中发挥重要作用^[1],不仅是DNA损伤的感受器,更是修复DNA的启动因子,还能修饰受损的DNA分子^[2,3]。本文将shMRE11转染肝癌耐药细胞株BEL7402/5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU),通过检测MRE11沉默对细胞DNA损伤修复的影响,初步探索MRE11与肝癌发生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 BEL7402/5-FU细胞株购自南京凯基生物科技发展有限公司, piGENE-PUR-hu6-

MRE11shRNAi质粒由北京大学医学部贾弘褪教授馈赠; Lipofectamine™2000购自Invitrogen公司; MRE11、 γ -H2AX抗体购自ABGENT公司; EdU检测试剂盒购自广州市锐博生物科技有限公司; MTT购自Solarbio公司; 其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 BEL7402/5-FU细胞的培养: 将BEL7402/5-FU细胞于含10%胎牛血清、20 μ g/mL 5-FU的DMEM培养液, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂饱和湿度条件下培养。细胞贴壁生长, 每天换液1次, 2-3 d传代一次, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 实验分组与质粒转染: 实验分为4组: 空白对照组、脂质体组、空质粒组、shMRE11实验组。将BEL7402/5-FU细胞接种于24孔培养板, 每孔接种细胞 2×10^4 个左右, 当细胞融合度达到80%左右时吸去各孔中的培养液, 将质粒-脂质体复合物加至相应培养孔中, 每孔100 μ L, 6 h后换液。

1.2.3 Real-time PCR检测MRE11 mRNA水平的表达: 细胞总RNA的提取按RNAiso Plus试剂盒说明书进行, Real-time PCR引物: MRE11上游5'-GTGGACAAGGAGGAGAAAGATG-3'; 下游3'-TACTTCAGGCACTCCGATACTG-5', 扩增片段长度为188 bp。 β -actin上游5'-TGGCACCAG-CACAATGAA-3'; 下游3'-CTAAGTCATAGTCC-GCCTAGAAGCA-5', 扩增片段长度为232 bp。

各组样品MRE11 mRNA表达量经Real-time PCR仪器检测, PCR产物作溶解曲线分析, 根据Ct值通过公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行相对定量分析计算可得MRE11 mRNA相对表达量。

1.2.4 Western blot检测MRE11、 γ -H2AX蛋白表达: 用预冷PBS将各组细胞漂洗2次, 加入1 mL蛋白裂解液充分裂解, 4 $^{\circ}$ C, 12000 r/min离心5 min, 提取细胞总蛋白。按BCA蛋白含量检测试剂盒步骤制作标准曲线, 计算样品蛋白浓度。取30 μ g蛋白样品与上样缓冲液混匀, 以SDS-PAGE电泳(MRE11测定用12%分离胶、5%积层胶, MRP1测定用8%分离胶、4%积层胶), 80 V约4 h。电泳完后取下凝胶, 电转至PVDF膜, 用5%的脱脂奶粉室温摇床封闭1 h。加入MRE11(稀释比例1:200)、 γ -H2AX(稀释比例1:2000)一抗, 37 $^{\circ}$ C孵育2 h, TBST洗膜3次。二抗37 $^{\circ}$ C孵育1 h, TBST洗膜3次, ECL发光显色。用Quantity One定量分析软件分析灰度比。

1.2.5 MTT法检测细胞增殖情况: 取BEL7402/5-

表 1 各组细胞MRE11 mRNA相对表达量 (mean \pm SD, $n = 3$)

分组	MRE11 mRNA水平(Ct值)	β -actin mRNA水平(Ct值)	相对倍数变化($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
空白对照组	23.027 \pm 0.051	15.063 \pm 0.101	1.000 \pm 0.000
脂质体组	22.837 \pm 0.193	15.010 \pm 0.262	1.100 \pm 0.043
质粒对照组	22.983 \pm 0.180	14.930 \pm 0.275	1.275 \pm 0.261
实验组	25.443 \pm 0.541 ^b	15.263 \pm 0.146	0.220 \pm 0.059 ^b

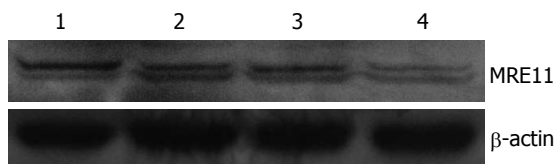
^b $P < 0.01$ vs 空白对照组.

图 1 各组细胞MRE11蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: 质粒对照组; 4: shMRE11实验组.

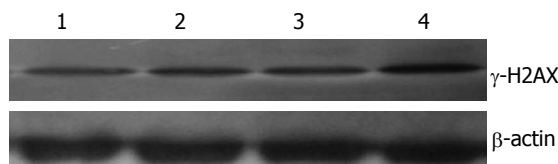


图 2 各组细胞γ-H2AX蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: 质粒对照组; 4: shMRE11实验组.

FU细胞制成细胞悬液, 接种于96孔培养板中, 共分4组, 各组设3个复孔, 每孔加量为200 μ L, 同时种3块96孔板. 各组分别于培养24、48、72 h后取出一块培养板, 各孔加入180 μ L无血清培养液、20 μ L MTT(0.5%), 继续培养4 h后弃上清, 每孔加150 μ L二甲基亚砷(DMSO), 摇床低速震荡10 min, 全自动酶标仪(490 nm)测定各孔吸光度值. 以培养时间为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制细胞生长曲线.

1.2.6 EdU法检测细胞DNA合成情况: 转染48h后将细胞按照广州锐博EdU检测试剂盒说明书进行操作, 荧光倒置显微镜下观察细胞并拍照, 蓝色荧光由绿光激发, 红色荧光由紫光激发. 每组取5个视野, 计数相同视野下EdU标记细胞及总细胞数, 计算DNA合成率.

统计学处理 以上实验均重复3次, 采用SPSS18.0软件包进行统计学分析, 实验数据以mean \pm SD表示. 对样本进行正态和方差齐性检验, 满足条件者, 多组间的均数比较采用单因素方差分析, 均数的两两比较采用LSD法, 两组间比较采用 t 检验. $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义.

2 结果

2.1 MRE11 mRNA水平表达检测 实验结果使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析, 结果显示(表1): 空白对照组、脂质体组、质粒对照组MRE11 mRNA表达无明显差异($P > 0.05$), shMRE11实验组MRE11 mRNA的表达较对照组明显下调($P < 0.01$). 通过计算得

到MRE11 mRNA水平的沉默效率为78.0%.

2.2 Western blot检测MRE11、 γ -H2AX蛋白水平表达 转染48 h后收集各组细胞, 提取总蛋白, Western blot检测转染后各组细胞MRE11、 γ -H2AX蛋白表达变化. 结果显示: 空白对照组、脂质体组、质粒对照组表达无明显差异($P > 0.05$), shMRE11实验组MRE11蛋白表达下降, 与对照组比较差异具有统计学意义($P < 0.01$), 计算得到MRE11蛋白水平的沉默效率为56.1%(表2, 图1); 与对照组相比shMRE11实验组 γ -H2AX蛋白表达增加($P < 0.05$). 提示MRE11的沉默能够增加化疗药物对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA造成的损伤(表3, 图2).

2.3 MTT法检测细胞增殖 MTT检测结果显示(表4): 空白对照组、脂质体组、质粒对照组细胞生长曲线差异不明显($P > 0.05$), 而shMRE11实验组细胞增殖能力降低, 与对照组相比, 差异具有统计学意义($P < 0.05$). 可见MRE11的沉默可抑制肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU的增值.

2.4 EdU法检测各组细胞DNA合成情况 各组细胞转染48 h后按EdU试剂盒说明书操作步骤进行检测, 荧光显微镜下观察, 计算每组DNA合成细胞即EdU标记细胞占总细胞的百分比(%). 由实验结果(表5)可知, shMRE11实验组DNA合成率明显低于对照组($P < 0.05$). 空白对照组、脂质体组、质粒对照组DNA合成率无明显差异($P > 0.05$), 提示MRE11的沉默能够抑制BEL7402/5-FU细胞的DNA合成.

■创新盘点

有实验证明MRN复合物在DNA双链断裂的早期就能感知这种损伤, 发挥一系列的效应, 但是对MRN复合物的组分之一Mre11在DNA修复过程中作用的研究报道则不是很明确, 两者的关系有待进一步研究.

■应用要点

肝癌化疗耐药是临床治疗的难点,抑制DNA损伤修复基因的表达有望逆转化疗耐药,本课题采用RNA干扰抑制MRE11基因的表达,进一步揭示肝癌细胞DNA损伤修复与化疗耐药的关系,为肝癌患者临床治疗提供实验依据。

表 2 各组细胞MRE11蛋白相对表达量 (mean ± SD, *n* = 3)

分组	MRE11/β-actin
空白对照组	0.804 ± 0.065
脂质体组	0.771 ± 0.030
质粒对照组	0.721 ± 0.010
实验组	0.353 ± 0.041 ^b

^b*P* < 0.01 vs 空白对照组。

表 4 各组细胞转染24、48、72 h MTT检测结果(mean ± SD, *n* = 3)

分组	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0.37 ± 0.06	0.60 ± 0.07	0.87 ± 0.09
脂质体组	0.38 ± 0.03	0.59 ± 0.03	0.85 ± 0.10
质粒对照组	0.43 ± 0.05	0.66 ± 0.10	0.86 ± 0.05
实验组	0.33 ± 0.07 ^a	0.48 ± 0.09 ^a	0.58 ± 0.08 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

3 讨论

肝癌是严重地威胁人类健康的临床常见肿瘤,治疗效果差。各种原因引起的DNA损伤是发生肝癌的重要分子基础, DNA损伤后可引起细胞的一系列反应,包括损伤信号的传导、损伤修复、诱导细胞死亡等。这些诱因也能作用于损伤修复系统中的某个环节,使DNA损伤不能修复或不能正确修复,细胞发生恶性转化^[4,5]。临床上很多化疗药物是以DNA为靶点,造成DSBs, DSBs发生后,细胞周期发生相应改变,信号传导途径检查点首先感知并放大损伤信号,启动一系列的生物学效应^[6-8]。MRE11是细胞应对DSBs过程中的一种重要的多功能蛋白质,参与最初蛋白复合物形成,其N端具有4个保守区,为磷酸酯酶结构域, C端有2个DNA结合区,并具有核酸酶活性^[9]。MRE11、RAD50和NBS1组成MRN复合物,在快速识别DSBs后可通过调控细胞周期,为DNA修复争取时间^[10],在DNA损伤的感知和修复以及信号的传导过程中起关键作用^[11-18]。因此可通过干扰DSBs修复功能,使肿瘤细胞不能及时修复DSBs,从而增加肿瘤细胞的放化疗敏感性^[19-21]。MRE11还可受一种新的细胞周期调节因子的调控,从而参与肿瘤的发生发展^[22]。肝癌组织中也存在MRE11表达异常的现象^[23]。目前关于MRE11的研究较少,他与肝癌的产生发展、肝癌细胞DNA损伤修复、耐药等是否有关

表 3 各组细胞γ-H2AX蛋白相对表达量 (mean ± SD, *n* = 3)

分组	γ-H2AX/β-actin
空白对照组	0.847 ± 0.025
脂质体组	0.873 ± 0.031
质粒对照组	0.863 ± 0.059
实验组	1.04 ± 0.056 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

表 5 各组细胞DNA合成率 (mean ± SD, *n* = 3, %)

分组	DNA 合成率
空白对照组	49.814 ± 1.227
脂质体组	47.469 ± 3.246
质粒对照组	48.397 ± 1.232
实验组	38.819 ± 2.607 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

是我们感兴趣的内容。

如前所述MRE11是DNA损伤修复相关因子,因此推测它的沉默对细胞的生物学行为有可能会有一定的影响。肿瘤的形成是基因调控的细胞增殖、分化异常和/或细胞凋亡过程受到抑制等方面作用所致。我们通过MTT法检测了各组细胞增殖情况,实验结果显示: shMRE11对BEL7402/5-FU细胞增殖具有抑制作用,使细胞增殖速度减慢,与Yuan等^[24]的研究结果相似。

肿瘤的发生与演进是肿瘤细胞过度增殖造成的,而肿瘤细胞的过度增殖必然涉及到DNA复制增加和DNA损伤修复功能增强。对于正常细胞,完整DNA损伤修复功能能保证细胞基因组染色体的完整性和稳定性,然而对于肿瘤细胞,临床常用的放化疗很多都是以DNA为靶点,研究DNA的损伤修复对肿瘤的治疗有非常重要的意义。如何诱导肿瘤细胞DNA损伤,防止DNA损伤的修复,从而诱导肿瘤细胞的坏死与凋亡,是肿瘤治疗的一个重要途径。

γ-H2AX是一类进化上保守的组蛋白H2A的变体^[25],在DSBs发生后可被磷酸化而富集到DNA断裂处,招募BRCA1、RAD51等DNA损伤修复蛋白对损伤处进行修复^[26-28],是重要的DNA损伤感应分子,是检测DSBs的金标准^[29,30]。为研究shMRE11对DNA损伤造成的影响,本研究用Western blot方法检测γ-H2AX表达来判断各组细胞的损伤程度。实验结果发现干扰BEL7402/5-

FU细胞中MRE11的表达后, γ -H2AX的表达增加,提示MRE11的抑制能够一定程度上增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤。

DNA损伤修复必然与DNA的合成有关,为了直观地了解各组细胞DNA合成情况的差异,我们用EdU法进行了检测。EdU是一种胸腺嘧啶核苷类似物,其乙炔基团在天然化合物中很少见,在细胞增殖时能够插入正在复制的DNA分子中,基于EdU与染料的共轭反应可以高效快速地检测细胞增殖,可以有效地检测DNA合成。结果显示MRE11干扰后DNA的合成减少,提示MRE11的沉默能够抑制DNA的合成,使BEL7402/5-FU细胞DNA损伤后的修复途径受阻。

总之,本课题研究结果表明,转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒能在一定程度上增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤,使DNA损伤修复功能减弱,增加了药物对细胞的损伤程度;并对细胞的生物学行为产生了一定的影响,使细胞增殖速度减慢,可见MRE11的沉默在一定程度上能够降低BEL7402/5-FU细胞的耐药性。本课题组的其它研究结果显示,转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒后,BEL7402/5-FU细胞中的多药耐药相关蛋白1(MRP1)的表达下调,并能促进细胞的凋亡(另文发表)。因此推测MRE11沉默降低细胞耐药性的机制除了与抑制DNA损伤修复途径有关,还可能与下调MRP1表达、促进细胞凋亡存在一定的联系,具体机制还需作进一步的实验研究。

4 参考文献

- 1 Yamaguchi-Iwai Y, Sonoda E, Sasaki MS, Morrison C, Haraguchi T, Hiraoka Y, Yamashita YM, Yagi T, Takata M, Price C, Kakazu N, Takeda S. Mre11 is essential for the maintenance of chromosomal DNA in vertebrate cells. *EMBO J* 1999; 18: 6619-6629 [PMID: 10581236 DOI: 10.1093/emboj/18.23.6619]
- 2 Liao S, Guay C, Toczylowski T, Yan H. Analysis of MRE11's function in the 5'--& gt; 3' processing of DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 4496-4506 [PMID: 22319209 DOI: 10.1093/nar/gks044]
- 3 Foster SS, Balestrini A, Petrini JH. Functional interplay of the Mre11 nuclease and Ku in the response to replication-associated DNA damage. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 4379-4389 [PMID: 21876003 DOI: 10.1128/MCB.05854-11]
- 4 朱德强, 黄志勇. DNA损伤与肝癌发生. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1775-1780
- 5 张阳德, 王宁, 廖明媚, 赵劲风, 杨满意, 郭春芳, 彭健. DNA损伤和修复在肝癌中的研究进展. *中国现代医学杂志* 2012; 13: 57-61
- 6 Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 2000; 408: 433-439 [PMID: 11100718]
- 7 Cummings WJ, Zolan ME. Functions of DNA repair genes during meiosis. *Curr Top Dev Biol* 1998; 37: 117-140 [PMID: 9352185 DOI: 10.1016/S0070-2153]
- 8 Rothkamm K, Krüger I, Thompson LH, Löbrich M. Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 5706-5715 [PMID: 12897142 DOI: 10.1128/MCB.23.16.5706-5715.2003]
- 9 Costanzo V, Robertson K, Bibikova M, Kim E, Grieco D, Gottesman M, Carroll D, Gautier J. Mre11 protein complex prevents double-strand break accumulation during chromosomal DNA replication. *Mol Cell* 2001; 8: 137-147 [PMID: 11511367]
- 10 Williams RS, Williams JS, Tainer JA. Mre11-Rad50-Nbs1 is a keystone complex connecting DNA repair machinery, double-strand break signaling, and the chromatin template. *Biochem Cell Biol* 2007; 85: 509-520 [PMID: 17713585]
- 11 Petrini JH. The Mre11 complex and ATM: collaborating to navigate S phase. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 293-296 [PMID: 10801460]
- 12 何湘, 钟辉. MRN复合物的结构及功能研究进展. *生物技术通讯* 2007; 18: 978-980
- 13 Maehara Y, Saeki H, Morita M. Molecular mechanisms of esophageal squamous cell carcinogenesis: clues to improve treatment outcomes. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 16: 387-388 [PMID: 21263417]
- 14 Deng Y, Guo X, Ferguson DO, Chang S. Multiple roles for MRE11 at uncapped telomeres. *Nature* 2009; 460: 914-918 [PMID: 19633651]
- 15 郭桂英, 石静滨, 陈凤霞, 徐晓颖, 张卓, 陈英海. 吉非替尼对肝癌Bel7402细胞株放射增敏作用机制的探讨. *中华临床医师杂志* 2012; 6: 5843-5847
- 16 van den Bosch M, Bree RT, Lowndes NF. The MRN complex: coordinating and mediating the response to broken chromosomes. *EMBO Rep* 2003; 4: 844-849 [PMID: 12949583 DOI: 10.1038/sj.embor.embor925]
- 17 Abraham RT, Tibbetts RS. Cell biology. Guiding ATM to broken DNA. *Science* 2005; 308: 510-511 [PMID: 15845843 DOI: 10.1126/science.1112069]
- 18 Lavin MF. ATM and the Mre11 complex combine to recognize and signal DNA double-strand breaks. *Oncogene* 2007; 26: 7749-7758 [PMID: 18066087 DOI: 10.1038/sj.onc.1210880]
- 19 王代友, 周诺. MRN复合体基因在头颈肿瘤治疗中的应用概况. *右江医学* 2008; 36: 731-732
- 20 王代友, 巫家晓, 张斌, 陆新萍. 突变型Nbs1基因转染对头颈癌化疗敏感性的影响. *口腔颌面外科杂志* 2009; 19: 239-242
- 21 沈洁, 王代友, 曹阳, 林丹, 陈超梅. ^{60}Co 射线照射大鼠涎腺组织后Mrell蛋白表达的初步研究. *临床口腔医学杂志* 2012; 28: 144-149
- 22 Guan R, Hou DF, Rao X, Guan YJ, Ouyang YM, Yu YH, Jim HU, Chen ZC. ZNF403, a Novel Cell Cycle Regulator. *Progress in Biochemistry and Biophysics* 2013; 40: 147-158
- 23 刘煜, 杨小丽, 侯宁波, 赵帆, 张艳红, 袁静, 何湘, 钟辉. 乙肝病毒感染导致Mrell下调及基因组断裂. *微生物学报* 2008; 48: 1031-1034
- 24 Yuan SS, Hou MF, Hsieh YC, Huang CY, Lee YC, Chen YJ, Lo S. Role of MRE11 in cell proliferation, tumor invasion, and DNA repair in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 1485-1502 [PMID: 22914783 DOI: 10.1093/jnci/djs355]
- 25 Redon C, Pilch D, Rogakou E, Sedelnikova O, Newrock K, Bonner W. Histone H2A variants H2AX and H2AZ. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:

■同行评价
本文具有一定的理论研究价值。

- 162-169 [PMID: 11893489 DOI: 10.1016/S0959-437X(02)00282-4]
- 26 Kinner A, Wu W, Staudt C, Iliakis G. Gamma-H2AX in recognition and signaling of DNA double-strand breaks in the context of chromatin. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: 5678-5694 [PMID: 18772227 DOI: 10.1093/nar/gkn550]
- 27 Paull TT, Rogakou EP, Yamazaki V, Kirchgessner CU, Gellert M, Bonner WM. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. *Curr Biol* 2000; 10: 886-895 [PMID: 10959836 DOI: 10.1016/S0960-9822(00)00610-2]
- 28 陈丽萍, 朱小年, 陈雯. DNA损伤修复过程中H2AX磷酸化的调控及其意义. *癌变·畸变·突变* 2011; 23: 148-151
- 29 邹鹏, 杨晓丽, 陈先. 博来霉素对肝癌细胞DNA损伤以及H2AX相互作用蛋白的影响. *复旦学报(自然科学版)* 2011; 1: 172-177
- 30 Downey M, Durocher D. gammaH2AX as a checkpoint maintenance signal. *Cell Cycle* 2006; 5: 1376-1381 [PMID: 16855385]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性

陈吉, 牛昊书

陈吉, 牛昊书, 内蒙古包头医院消化内科 内蒙古自治区包头市 014010

陈吉, 主任医师, 教授, 主要从事消化系统疾病的诊治。

内蒙古自然科学基金面上资助项目, No. 2013MS1104

作者贡献分布: 课题设计由牛昊书与陈吉共同设计; 样本采集由陈吉完成; 研究过程由陈吉与牛昊书共同操作完成; 试剂与分析工具由牛昊书提供; 数据分析由牛昊书完成; 论文写作由陈吉与牛昊书共同完成。

通讯作者: 牛昊书, 主治医师, 014010, 内蒙古自治区包头市昆区少先路20号, 内蒙古包头医院消化内科。

niuhaoshu@sina.com

电话: 0472-5992847 传真: 0472-5992847

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-08-30

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer

Ji Chen, Hao-Shu Niu

Ji Chen, Hao-Shu Niu, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Baogang Hospital, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of Inner Mongolia, No. 2013MS1104

Correspondence to: Hao-Shu Niu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Baogang Hospital, 20 Shaoxian Road, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China. niuhaoshu@sina.com

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-08-30

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To detect the expression of suppression of tumorigenicity13 (ST13) and heat shock protein70 (HSP70) in gastric polyps and gastric cancer and to analyze their correlation.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of ST13 and HSP70 in 30 cases of normal gastric mucosa, 30 cases of gastric polyps, 16 cases of gastric adenomatous polyps, and 30 cases of gastric carcinoma. The correlation between expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric carcinoma was analyzed.

RESULTS: The rank mean for HSP70 expression in normal gastric mucosa, hyperplastic polyps, adenomatous polyps, gastric carcinoma was

32.35, 40.47, 63.25, and 82.48, respectively, showing a gradually decreasing trend ($P < 0.01$). The rank mean for expression of ST13 in normal gastric mucosa, hyperplastic polyps, adenomatous polyps, and gastric carcinoma group was 68.25, 59.77, 44.91 and 37.07, respectively, showing a gradually increasing trend. HSP70 and ST13 expression was negatively correlated in both adenomatous polyps and gastric cancer.

CONCLUSION: HSP70 protein expression shows an increasing trend and ST13 protein expression shows a decreasing trend in gastric carcinogenesis, suggesting that HSP70 and ST13 are closely related to the formation of gastric cancer. There is a negative correlation between HSP70 protein and ST13 protein expression in gastric adenomatous polyps and gastric carcinoma, suggesting that they may interact with each other.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: ST13; HSP70; Gastric polyps; Gastric cancer

Chen J, Niu HS. Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3059-3066 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3059.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3059>

摘要

目的: 测定肿瘤发生抑制基因13号(suppression of tumorigenicity13, ST13)蛋白和热休克蛋白70 (heat shock protein70, HSP70)在胃息肉癌变过程中的表达水平, 揭示ST13和HSP70在胃息肉及胃癌形成过程中的相互关系及临床意义。

方法: 采用免疫组织化学SABC法检测ST13和HSP70在106例胃黏膜组织中的表达水平, 按组织病理类型分为: 正常胃黏膜组30例、增生性息肉组30例、腺瘤样息肉组16例、胃癌组30例, 研究二者在胃息肉癌变过程中表达的相互作用及临床意义。

■背景资料

胃癌为消化系统常见肿瘤之一, 胃息肉是WHO确定的胃癌的癌前疾病之一, 探究胃息肉癌变的分子生物学机制是目前胃癌的研究热点之一, 热休克蛋白70(heat shock protein70, HSP70)又称应激蛋白, 具有提高细胞应激耐受性及细胞自身稳定功能, 与细胞的增生、分化、凋亡、癌变及免疫等过程有关, 被认为是肿瘤形成发展的先决条件之一。ST13基因(suppression of tumorigenicity 13)是一种大肠癌负相关基因, 目前研究表明其主要作为HSP70的分子伴侣发挥生物学功能, 现有研究证实其可能与肿瘤细胞转移和细胞生长有关。

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■ 研发前沿

胃癌组织中HSP70蛋白呈过度表达,使用反义RNA特异性抑制胃癌细胞中的HSP70蛋白表达,可以使胃癌进展缓慢甚至好转,但其具体机制不明,ST13作为HSP70的分子伴侣,可能通过HSP70发挥其部分生物学作用,了解ST13与HSP70在胃癌中的关系及作用机制,将对HSP70在胃癌中作用的研究提供帮助。

结果:采用Kruskal-wallis H方法检验HSP70在正常胃黏膜组、增生性息肉组、腺瘤样息肉组、胃癌组中的表达秩均值分别为32.35、40.47、63.25、82.48,有非常显著的差异性($P<0.01$),表达呈逐渐递增趋势。ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为68.25、59.77、44.91、37.07,有非常显著差异性($P<0.01$),表达呈逐渐递减趋势。HSP70和ST13在腺瘤样息肉组和胃癌组中表达呈非常显著负相关($P<0.01$)。

结论:(1)HSP70蛋白在正常胃黏膜、胃增生性息肉、胃腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达水平呈显著增高趋势;(2)ST13蛋白在正常胃黏膜、胃增生性息肉、胃腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达水平呈显著降低趋势;(3)在胃腺瘤样息肉及胃癌组织中HSP70蛋白与ST13蛋白可能相互作用,其相互关系为负相关,HSP70蛋白可能对其分子伴侣ST13蛋白产生直接或间接下调作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: ST13; HSP70; 胃息肉; 胃癌

核心提示: HSP70蛋白的高表达和ST13蛋白的低表达在胃息肉癌变的过程中具有密切的负相关性,二者的表达在胃癌的发生、发展过程中发挥着重要作用。早期检测HSP70蛋白及ST13蛋白在胃癌癌前病变中的表达程度,将有助于提高胃癌早期发现的几率,同时,为胃癌的肿瘤免疫治疗及分子靶向治疗提供研究线索。

陈吉,牛昊书. ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3059-3066 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3059.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3059>

0 引言

胃癌为消化系统常见肿瘤之一,全球每年有900万新发胃癌病例,每年700万人因胃癌而死亡。其致死率为全球所有肿瘤致死率第2位^[1],居我国消化系统恶性肿瘤发病率和死亡率第1位,病死率在我国排首位^[2],胃息肉是胃癌的癌前疾病之一,分为增生性息肉和腺瘤样息肉,部分有恶变倾向^[3],细胞增殖与凋亡平衡的失调是肿瘤形成、进展的重要原因,也是目前肿瘤研究最广泛、最深入的领域,其影响因素众多,而热休克蛋白70(heat-shock protein70, HSP70)在维持其平

衡稳定的过程中占有重要地位,HSP70又称应激蛋白,具有提高细胞应激耐受性及细胞自身稳定功能,与细胞的增生、分化、凋亡、瘤变及免疫等过程有关,其在多种肿瘤细胞中表达增强,被认为是肿瘤形成发展的先决条件之一。目前研究已经证实,胃癌组织中HSP70蛋白呈过度表达,使用反义RNA特异性抑制胃癌细胞中的HSP70蛋白表达,可以使胃癌进展缓慢甚至好转,提示HSP70是胃癌形成、发展的重要影响因素之一,但其在胃癌癌变过程中的具体机制尚不完全清楚。肿瘤发生抑制基因13号(suppression of tumorigenicity 13, *ST13*)基因是一种大肠癌负相关基因,目前研究表明其主要作为HSP70的分子伴侣在不同的正常组织及肿瘤组织中发挥不同的生物学功能,现有研究证实其可能与肿瘤细胞转移和细胞生长有关。ST13可能通过HSP70发挥其部分生物学作用,了解ST13与HSP70在胃癌中的关系及作用机制,将对HSP70在胃癌中作用的研究提供帮助。本研究旨在通过测定HSP70蛋白和ST13蛋白在胃息肉及胃癌中的表达水平,研究ST13蛋白和HSP70蛋白在胃息肉及胃癌形成过程中的相互关系及临床意义。探索胃息肉癌变过程中的影响因素,从而为胃癌的早期临床诊断及治疗研究提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 胃增生性息肉、腺瘤样息肉及正常胃黏膜组:选取2010-09/2012-07在内蒙古包头医院消化内科内窥镜中心行胃镜活检的石蜡标本共76例,分为正常胃黏膜组30例,其中男性10例,女性20例,年龄30-46岁(均以腹胀、中上腹不适为主要症状就诊,均行¹⁴C呼气试验排除幽门螺杆菌感染,就诊4 wk内均未服用质子泵抑制剂、NSAID类药物、无饮酒史);增生性息肉组30例,其中男性9例,女性21例,年龄37-56岁;腺瘤样息肉组16例,其中男性3例,女性13例,年龄41-52岁;以上各组均由2位胃镜专家及2位病理学专家按内镜形态学及病理组织学证实。

胃癌组:选取2010-09/2012-07在内蒙古包头医院普外科手术切除及消化内科内窥镜中心行胃镜活检的胃腺癌石蜡标本共30例,其中男性14例,女性16例,年龄35-66岁,按临床TNM分期均为II期,均由2位消化内科专家及2位病理学专家按内镜形态学及病理组织学证实。兔抗人HSP70多克隆抗体(美国bioass公司);SABC(Strept Avidin-Biotin Complex)免疫组织化学试剂盒(福

表 1 胃增生性息肉中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	1	2	-0.105	0.577
	+	6	2	2	0	10		
	++	2	5	1	0	8		
	+++	4	5	1	0	10		
合计		12	12	5	1	30		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70.

州迈新生物技术公司); DAB显色试剂盒(福州迈新生物技术公司).

1.2 方法

1.2.1 常规HE染色确定标本的组织病理类型: 所有标本用组织石蜡包埋机制成蜡块, 将蜡块以5 μ m厚度连续切取3张切片, 其中1张切片经病理专家采用HE染色经病理诊断再次证实, 余2张切片采用SABC免疫组织化学染色.

1.2.2 SABC免疫组织化学染色: 标本石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 高温高压抗原热修复, 常温下冷却45 min, PBS冲洗, 滴加过氧化酶阻断溶液, 室温下孵育10 min, PBS冲洗, 滴加正常非免疫动物血清(试剂B), 室温下孵育12 min. 除去血清, 滴加第一抗体(ST13、HSP70)4 $^{\circ}$ C过夜, PBS冲洗, 滴加生物素标记的第二抗体, 室温下孵育10 min. PBS冲洗, 滴加链霉素抗生物素-过氧化物酶溶液, 室温下孵育10 min. PBS冲洗3次滴加DAB显微镜下观察观察5 min, 苏木素复染、反蓝、梯度酒精脱水、二甲苯透明, 中性树胶封固.

1.2.3 判定标准: HSP70及ST13免疫组织化学阳性产物呈棕黄色颗粒, 定位于细胞浆内. 采用Bresalier半定量公式判断染色结果. 在每张切片中随机选取10个高倍视野, 每个高倍视野根据细胞染色情况分为细胞无着色为0分、淡黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分; 计数每一着色视野数, 根据下列计算公式确定每张切片的平均染色强度: 强度分值(intensity store, IS) = $\sum \{(0 \times F_0) + (1 \times F_1) + (2 \times F_2) + (3 \times F_3)\}$, F为每类型视野的百分比. 例如: 一张切片随机选取10个视野, 无着色2个视野, 占20%, 淡黄色3个视野, 占30%, 棕黄色占3个视野, 占30%, 棕褐色占2个视野, 占20%. 此切片染色强度IS = $(0 \times 20\%) + (1 \times 30\%) + (2 \times 30\%) + (3 \times 20\%) = 1.5$. 每张切片按染色强度分为4级, 0分: 阴性(-); 0-1分: 弱阳性

(+); 1-2分: 中强阳性(++); 2-3分: 强阳性(+++).

统计学处理 数据分析采用SPSS19.0软件系统, 对实验数据进行Kruskal-wallis H非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行bonferroni法多重比较(组间采用Mann-Whitney U检验), 以校验 $P < 0.008$ ($P < 0.05$)为差异有统计学意义. ST13和HSP70表达的相关性采用Kendall's tau-b等级相关分析法. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HSP70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中表达水平的比较 HSP70表达定位于正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织的细胞胞浆中, 免疫阳性产物为棕黄色. HSP70于各组中的表达情况如表1-3所示, 染色采用Kruskal-wallis H方法检验HSP70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为32.35、40.47、63.25、82.48, 有非常显著的差异性($P < 0.01$, 表4, 图1), 表达呈逐渐递增趋势. 对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行Bonferroni法多重比较, 校验后当 $P = 0.008$ 时 $P = 0.05$, 以校验 $P < 0.008$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 增生性息肉组与正常胃黏膜组表达无显著差异性($U = 361.5$, $P > 0.05$), 腺瘤样息肉组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 96$, $P < 0.01$), 胃癌组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 48$, $P < 0.01$), 腺瘤样息肉组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 128$, $P < 0.05$), 胃癌组与腺瘤样息肉组表达无显著差异性($U = 140$, $P > 0.05$), 胃癌组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 82$, $P < 0.01$).

2.2 ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样

■ 相关报道

张建军等发现HSP70 mRNA在胃癌组织中的表达程度明显高于正常胃黏膜组织, 未分化型癌的HSP70 mRNA表达程度明显高于分化型癌, 在TNM分期Ⅲ、Ⅳ期中, HSP70 mRNA的表达程度明显高于其他分期, 提示HSP70可用于判断胃癌分化程度及临床分期的辅助指标, Zhao等在研究中利用HSP70反义寡核苷酸转染到胃癌SGC-7901细胞系内发现, HSP70反义寡核苷酸定向在人HSP70的mRNA中, 使得人胃癌SGC-7901的细胞增殖和存活受到抑制. 提示HSP70的反义RNA基因治疗可以作为胃癌的有效治疗方法之一.

■创新盘点

近年大量研究发现,在胃癌的发生、发展中,HSP70成高表达,并与胃癌的组织类型及临床分期有关.而作为HSP70分子伴侣的ST13在胃癌中表达的相关研究较少,本研究发现,HSP70与ST13在胃癌变过程中的表达呈负相关关系,在胃癌变的发生发展过程中,ST13可能存在其他的调节机制或参与抑制其他的细胞凋亡途径,而非单纯通过HSP70起调控作用.

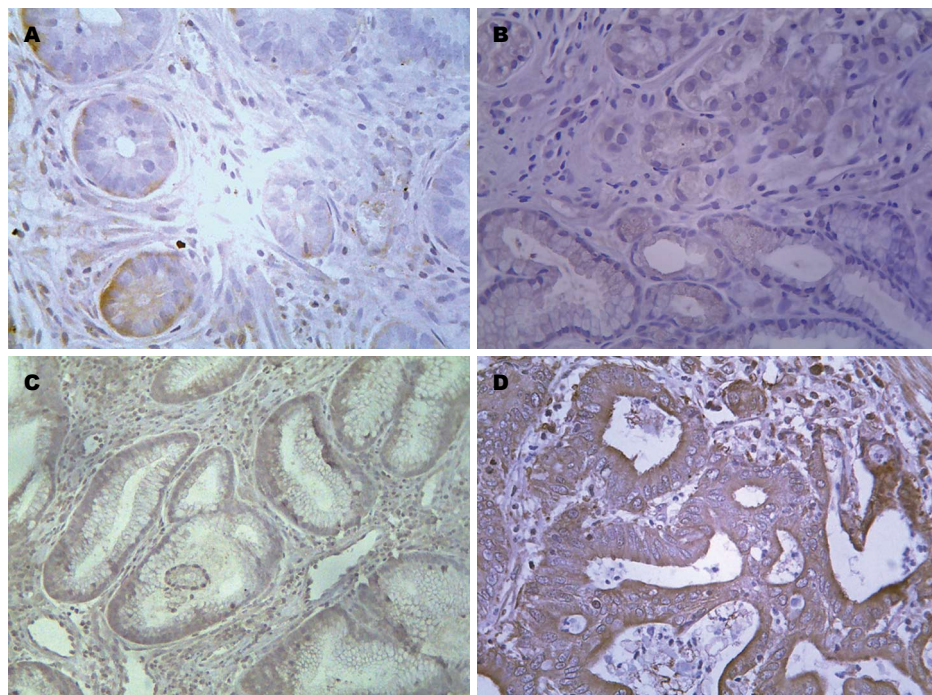


图1 HSP70在不同胃黏膜病变中的表达. A: HSP70在正常胃黏膜中的表达($\times 400$); B: HSP70在增生型息肉中的表达($\times 200$); C: HSP70在腺瘤型息肉中的表达($\times 200$); D: HSP70在胃癌中的表达($\times 100$). HSP70: 热休克蛋白70.

表2 胃腺瘤样息肉中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	1	2	-0.532	0.002
	+	0	1	3	3	7		
	++	2	2	1	1	6		
	+++	1	0	0	0	1		
合计		3	3	5	5	16		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70.

息肉、胃癌组织中表达水平的比较 ST13表达定位于正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织的细胞胞浆中,免疫阳性产物为棕黄色. ST13于各组中的表达情况如表1-3所示,采用Kruskal-wallis H方法检验ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为68.25、59.77、44.91、37.07,有非常显著差异性($P<0.01$,表5,图2),表达呈逐渐递减趋势.对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行bonferroni法多重比较,校验后当 $P = 0.008$ 时 $P = 0.05$,以校验 $P<0.008$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.增生性息肉组与正常胃黏膜组表达无显著差异性($U = 381$, $P>0.05$),腺瘤样息肉组与正常胃黏膜

组表达有显著差异性($U = 128$, $P<0.05$),胃癌组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 188.5$, $P<0.01$),腺瘤样息肉组与增生性息肉组表达无显著差异性($U = 172$, $P>0.05$),胃癌组与腺瘤样息肉组表达无显著差异性($U = 197.5$, $P>0.05$),胃癌组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 261$, $P<0.05$).

2.3 HSP70与ST13之间的相关性 采用Kendall's tau-b方法检验增生性息肉组、腺瘤样息肉组、胃癌组中ST13与HSP70的相关性,在增生性息肉组中,ST13与HSP70的表达呈负相关,但无显著性差异($r = -0.105$, $P>0.05$,表1);在腺瘤样息肉组中,ST13与HSP70的表达成非常显著地负相关($r = -0.532$, $P<0.01$,表2);在胃癌组中,ST13

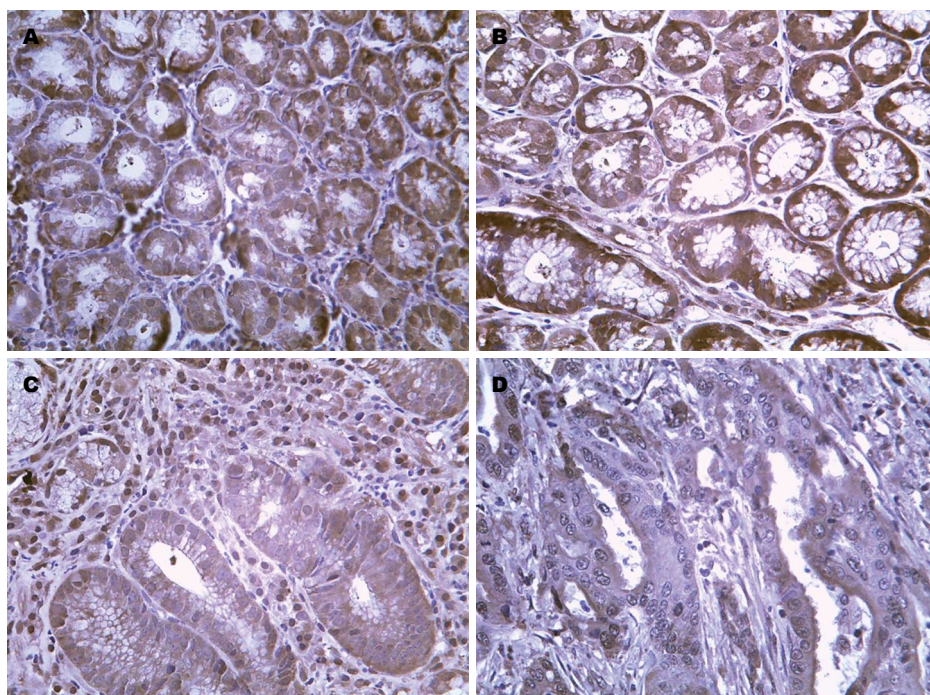


图 2 ST13在不同胃黏膜病变中的表达. A: ST13在正常胃黏膜中的表达($\times 100$); B: ST13在增生型息肉中的表达($\times 100$); C: ST13在腺瘤型息肉中的表达($\times 200$); D: ST13在胃癌中的表达($\times 400$). ST13: 肿瘤发生抑制基因13号.

应用要点

完善HSP70在胃癌发生、发展中的分子作用机制, 了解HSP70及其分子伴侣ST13在胃癌变的相互关系, 探寻HSP70及ST13对胃癌细胞的免疫、凋亡的影响, 可以对HSP70的反义RNA基因治疗胃癌提供线索, 具有一定临床前景.

表 3 胃癌中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	7	8	-0.364	0.009
	+	1	0	2	9	12		
	++	0	2	3	4	9		
	+++	0	0	1	0	1		
合计		1	2	7	20	30		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70.

与HSP70的表达成非常显著地负相关($r = -0.364$, $P < 0.01$, 表3).

3 讨论

热休克蛋白HSP70是热休克蛋白家族中的极重要成员, 其作为分子伴侣在蛋白质折叠、组装、运输、降解及控制的调节蛋白的活性的过程中发挥重要作用^[4], 与肿瘤的发生、发展、肿瘤免疫以及机体对肿瘤治疗药物耐药性的发生、发展和肿瘤预后都有关^[5]. HSP70蛋白的主要生物学功能是在应激状态下保护细胞生命活动所必需的蛋白质以维持细胞的生存, 并参与细胞的增殖调控^[6], 参与肿瘤增殖、分化和抗肿瘤免疫^[7].

HSP70通过“分子伴侣”功能在肿瘤细胞

的形成与发展中起着凋亡抑制作用: (1)他作为分子伴侣优先表达于人类肿瘤细胞和培养的肿瘤细胞系中, 大量研究表明, HSP70可通过与其客户端的蛋白质相互作用, 在细胞信号转导、细胞周期调控、细胞分化和程序性细胞死亡的过程中发挥重要功能, 以保护肿瘤细胞避免大范围的细胞凋亡和坏死^[8]; (2)作为分子伴侣, HSP70通过与原癌基因和抑癌基因及其蛋白产物的相互作用调节肿瘤细胞的增殖, 其过度表达HSP70的恶性肿瘤呈持续增殖状态, 而选择性去除HSP70蛋白的恶性肿瘤组织的增殖则明显变得缓慢^[7,9,10]; (3)有研究表明, HSP70的过度表达会干扰磷脂酶A2的信号转运系统, 降低其在细胞毒性中的作用, 减少肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)介导的对特定肿瘤细胞的

■同行评价

本文观察了ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达,对研究胃癌癌变过程中的基因表达异常具有重要意义,可以为胃癌诊治提供新的线索。

表 4 热休克蛋白70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达

	分组	n	平均秩	χ^2 值	P值
热休克蛋白70染色强度	正常胃黏膜组	30	32.35 ^c	51.359	0.006
	增生性息肉组	30	40.47 ^c		
	腺瘤样息肉组	16	63.25 ^a		
	胃癌组	30	82.48 ^a		
	合计	106			

^a $P < 0.05$ vs 增生性息肉组、正常胃黏膜组; ^c $P < 0.05$ vs 腺瘤样息肉组、胃癌组。

表 5 ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达

	分组	n	平均秩	χ^2 值	P值
ST13染色强度	正常胃黏膜组	30	68.25 ^a	19.587	0.003
	增生性息肉组	30	59.77 ^{ac}		
	腺瘤样息肉组	16	44.91 ^{ce}		
	胃癌组	30	37.07 ^e		
	合计	106			

^a $P < 0.05$ vs 腺瘤样息肉组、胃癌组; ^c $P < 0.05$ vs 正常胃黏膜组、胃癌组; ^e $P < 0.05$ vs 增生性息肉组、正常胃黏膜组。ST13: 肿瘤发生抑制基因13号。

细胞杀伤,从而协助肿瘤细胞免受免疫杀伤作用;(4)HSP70作为“分子伴侣”,具有在抗原呈递中将抗原分解成特异性肽段从而直接控制细胞呈递抗原的能力,并提供结合蛋白,协同参与抗原加工、转运、免疫球蛋白装配及T细胞免疫^[11],HSP70在人体多种不同肿瘤组织和细胞中的表达均明显增高,其过度表达程度是在抗肿瘤治疗效果不佳的癌症(如乳腺癌,子宫内膜癌,宫颈癌,和膀胱癌)中尤其明显^[12,13],HSP70在机体的自身免疫、抗感染免疫,特别是肿瘤免疫中起重要作用;(5)研究还发现HSP70反义RNA可以特异性抑制HSP70的表达。选择性的下调HSP70可以导致肿瘤细胞表现为增生抑制,甚至是诱导凋亡^[14]。提示HSP70可能作为一种重要的基因控制着肿瘤细胞的增生及凋亡。多项研究表明,胃癌组织中的HSP70蛋白呈过度表达^[15-18],提示HSP70蛋白过度表达与胃癌的形成发展有密切关系。本研究发现HSP70蛋白在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达呈显著逐渐递增趋势($P < 0.01$),其中正常胃黏膜与增生性息肉组的表达无显著差异性($P > 0.05$),腺瘤样息肉、胃癌组与正常胃黏膜、增生性息肉组有显著差异,腺瘤样息肉是增殖较活跃的异形细胞,其细胞内蛋白质的合成明

显增强,需要大量的HSP70作为分子伴侣参与合成蛋白质生物活性功能,早期检测HSP70蛋白的表达水平将对胃癌的早期诊断及发现具有极其重要的参考价值。本实验发现HSP70在腺瘤样息肉中的表达明显增加,虽多重比较腺瘤样息肉组织与胃癌组织中的表达无显著性差异(较验前 $P > 0.008$, 校验后 $P > 0.05$),但单独比较HSP70在二者中的表达水平仍有较显著的差异(较验前 $P < 0.05$),提示HSP70蛋白的增多与胃癌的形成和发展有重要的关系,与目前国内外相关研究结果相符。

ST13分子有数个不同的功能区^[19]: N-端功能区可使其分子同源聚合(homo-oligomerization); TPR(tetratricopeptide repeats)功能区可使其与HSP70的ATPase区结合; GGMP重复序列被认为与HSP70的多肽结合区相互作用有关; C端的p60/Stil区被认为可调节GGMP功能区与HSP70多肽结合区的相互作用^[20]。ST13蛋白具有与多种细胞凋亡子相互作用的分子特性,有可能与其他细胞凋亡子如凋亡蛋白酶激活因子(apoptotic protease activating factor-1, APAF-1)、凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)、B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)基因等相互作用,其中APAF-1、AIF与HSP70的ATP结合

区序列有局部同源性, 由于ST13可与HSP70分子上的ATP结合区直接作用^[20], ST13有可能与APAF-1和AIF的ATP结合区直接作用从而抑制凋亡小体的形成或抑制AIF所参与的凋亡通路^[21]. Bcl-2家族为细胞凋亡的重要调控因子, 该家族成员 B淋巴细胞瘤-2基因相关抗凋亡蛋白(Bcl-2 associated athanogene 1, BAG-1)可与Bcl-2相互作用抑制细胞凋亡, 也可以其保守的C端结构域与HSP70结合, 稳定HSP70的ATP构象, 使HSP70与其作用底物蛋白解离, 起负调控HSP70的作用^[20-23]. ST13可与BAG-1竞争性结合HSP70的ATPase结合位点, 抑制ADP的解离, 防止底物蛋白的过早释放或解离, 从而稳定HSP70的分子伴侣活性而发挥正调控分子伴侣作用^[24]. 国内李岗等^[25]发现, ST13蛋白在人体不同组织的恶性肿瘤中有不同程度的表达, 据此推测, ST13蛋白在不同组织来源的恶性肿瘤的发生发展中扮演不同的作用. 国内郑树等研究显示, ST13在大肠癌及胃癌组织中呈低表达趋势, 本研究结果发现ST13蛋白在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达呈显著逐渐递减趋势($P<0.01$), 与目前研究结果相符, 表明ST13蛋白可能通过与HSP70相互作用参与了胃细胞内的重要事件, ST13通常被描述为抑癌基因, 但为什么在胃癌、大肠癌中出现表达下调, 而在其他肿瘤中表达上调, 考虑可能与基因突变或功能改变有关, 但目前尚无相关研究证据证明. 其具体分子生物学功能尚待进一步研究.

本研究结果表明HSP70和ST13在腺瘤样息肉组和胃癌组中表达呈非常显著的负相关性($P<0.01$), 而在胃增生性息肉组中的相关性无显著差异性($P>0.05$), 因胃增生性息肉主要为炎性刺激所致, 而腺瘤样息肉及胃癌主要为基因变异所致, 提示HSP70与ST13在潜在恶性及恶性肿瘤形成的过程中存在相互影响的关系. 部分研究结果表明, HSP70的过度表达是人体各组织恶性肿瘤形成的前提条件^[26], HSP70是胃癌形成过程中的重要影响因素之一, 而长期被作为HSP70的分子伴侣所研究的ST13, 目前研究仅发现ST13正调控HSP70的分子伴侣作用^[27-29], 与本研究结果相反, 但为什么会出现起正调控功能的作为HSP70分子伴侣的ST13下调, 而HSP70本身被过度表达的机制尚不清楚. 最近相关免疫组织化学研究表明, ST13下调可能仅存于胃癌、大肠癌等特殊类型癌症中, 而在其他类型

的癌症如乳腺癌、肺癌、肝癌、子宫内膜癌中进行同样的研究, 未能遵循这个模式. 因目前对ST13基因功能的研究尚较少, 其基因功能尚未完全阐明^[30], 结合ST13具有多个功能区, 可与多种细胞因子相互作用的潜在分子特性^[31], 故据此推测, 在胃癌变的发生发展过程中, ST13可能存在其他的调节机制或参与抑制其他的细胞凋亡途径, 而非单纯通过HSP70起调控作用, 其具体分子生物学机制尚须进一步研究.

总之, HSP70蛋白的高表达和ST13蛋白的低表达在胃息肉癌变的过程中具有密切的负相关性, 二者的表达在胃癌的发生、发展过程中发挥着重要作用. 早期检测HSP70蛋白及ST13蛋白在胃癌癌前病变中的表达程度, 将有助于提高胃癌早期发现的几率, 同时, 肿瘤免疫治疗及分子靶向治疗是目前胃癌研究领域的重点方向, 随着研究的深入开展, 其对预防胃癌的复发、转移、降低对抗肿瘤药物的耐药性的优势亦逐渐显现出来^[32], 是最有前景的肿瘤治疗方法. 通过今后更加深入的研究, HSP70及ST13有可能会成为胃癌免疫治疗及分子靶向治疗的潜在靶分子.

4 参考文献

- 1 Hotta K, Oyama T, Akamatsu T, Tomori A, Hasebe O, Nakamura N, Kojima E, Suga T, Miyabayashi H, Ohta H. A comparison of outcomes of endoscopic submucosal dissection (ESD) For early gastric neoplasms between high-volume and low-volume centers: multi-center retrospective questionnaire study conducted by the Nagano ESD Study Group. *Intern Med* 2010; 49: 253-259 [PMID: 20154428]
- 2 Wang G, Yu D, Tan W, Zhao D, Wu C, Lin D. Genetic polymorphism in chemokine CCL22 and susceptibility to Helicobacter pylori infection-related gastric carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 2430-2437 [PMID: 19298002 DOI: 10.1002/cncr.24255]
- 3 Goddard AF, Badreldin R, Pritchard DM, Walker MM, Warren B. The management of gastric polyps. *Gut* 2010; 59: 1270-1276 [PMID: 20675692 DOI: 10.1136/gut.2009.182089]
- 4 Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571-579 [PMID: 8637592 DOI: 10.1038/381571a0]
- 5 Conroy SE, Latchman DS. Do heat shock proteins have a role in breast cancer? *Br J Cancer* 1996; 74: 717-721 [PMID: 8795573 DOI: 10.1038/bjc.1996.427]
- 6 Chen YC, Lin-Shiau SY, Lin JK. Involvement of heat-shock protein 70 and P53 proteins in attenuation of UVC-induced apoptosis by thermal stress in hepatocellular carcinoma cells. *Photochem Photobiol* 1999; 70: 78-86 [PMID: 10420846 DOI: 10.2169/intermalmedicine.49.2816]
- 7 Jäättelä M. Escaping cell death: survival proteins

- in cancer. *Exp Cell Res* 1999; 248: 30-43 [PMID: 10094811 DOI: 10.1006/excr.1999.4455]
- 8 Nylandsted J, Brand K, Jäättelä M. Heat shock protein 70 is required for the survival of cancer cells. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 926: 122-125 [PMID: 11193027]
- 9 Jäättelä M, Wissing D, Kokholm K, Kallunki T, Egeblad M. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases. *EMBO J* 1998; 17: 6124-6134 [PMID: 9799222 DOI: 10.1093/emboj/17.21.6124]
- 10 Aghdassi A, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Sharif R, Dawra R, Lerch MM, Saluja A. Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 616-625 [PMID: 17234771 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1567]
- 11 Haug M, Dannecker L, Schepp CP, Kwok WW, Wernet D, Buckner JH, Kalbacher H, Dannecker GE, Holzer U. The heat shock protein Hsp70 enhances antigen-specific proliferation of human CD4+ memory T cells. *Eur J Immunol* 2005; 35: 3163-3172 [PMID: 16245362 DOI: 10.1002/eji.200535050]
- 12 Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaperones* 2005; 10: 86-103 [PMID: 16038406 DOI: 10.1379/CSC-99r.1]
- 13 Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ, McGuire WL. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 570-574 [PMID: 8455204 DOI: 10.1093/jnci/85.7.570]
- 14 Zhao ZG, Shen WL. Heat shock protein 70 anti-sense oligonucleotide inhibits cell growth and induces apoptosis in human gastric cancer cell line SGC-7901. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 73-78 [PMID: 15609400]
- 15 刘重元, 欧阳美黎, 谢海龙. HSP70蛋白在胃癌中的表达. *南华大学学报(医学版)* 2007; 3: 336-337, 340
- 16 吴永梅, 居来提, 谢会忠. 慢性萎缩性胃炎热休克蛋白70(HSP70)表达的相关研究. *中国现代医学杂志* 2010; 2: 179-182, 195
- 17 薄爱华, 戴洁, 王金科, 张志生, 左东升, 张江兰, 白丽娜, 陈秀玲, 杨燕君. 热休克蛋白70 mRNA在老年人胃癌中表达的意义. *中国老年学杂志* 2005; 6: 655-656
- 18 张剑军, 徐惠绵, 赵宜良, 戴小淳, 张涛, 赵岩. 热休克蛋白70在胃癌组织中表达及与胃癌生物学行为的关系. *实用肿瘤学杂志* 2003; 17: 291-293
- 19 Velten M, Villoutreix BO, Ladjimi MM. Quaternary structure of the HSC70 cochaperone HIP. *Biochemistry* 2000; 39: 307-315 [PMID: 10630990 DOI: 10.1021/bi9917535]
- 20 董庆华. 大肠癌相关基因ST13功能研究. 杭州: 浙江大学, 2004
- 21 Ravagnan L, Gurbuxani S, Susin SA, Maisse C, Daugas E, Zamzami N, Mak T, Jäättelä M, Penninger JM, Garrido C, Kroemer G. Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 839-843 [PMID: 11533664]
- 22 Wang HG, Takayama S, Rapp UR, Reed JC. Bcl-2 interacting protein, BAG-1, binds to and activates the kinase Raf-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 7063-7068 [PMID: 8692945]
- 23 Takayama S, Sato T, Krajewski S, Kochel K, Irie S, Millan JA, Reed JC. Cloning and functional analysis of BAG-1: a novel Bcl-2-binding protein with anti-cell death activity. *Cell* 1995; 80: 279-284 [PMID: 7834747]
- 24 薛晶文. ST13/HIP和HSP70在子宫内膜癌组织中的表达及临床意义. 沈阳: 中国医科大学, 2008
- 25 李岗, 张苏展. 大肠癌生长抑制基因ST13在恶性肿瘤及其相邻正常组织中的表达. *实用肿瘤杂志* 2000; 15: 262-263
- 26 Saibil H. Molecular chaperones: containers and surfaces for folding, stabilising or unfolding proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 10: 251-258 [PMID: 10753820 DOI: 10.1016/S0959-440X(00)00074-9]
- 27 Ballinger CA, Connell P, Wu Y, Hu Z, Thompson LJ, Yin LY, Patterson C. Identification of CHIP, a novel tetratricopeptide repeat-containing protein that interacts with heat shock proteins and negatively regulates chaperone functions. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 4535-4545 [PMID: 10330192]
- 28 Takayama S, Bimston DN, Matsuzawa S, Freeman BC, Aime-Sempe C, Xie Z, Morimoto RI, Reed JC. BAG-1 modulates the chaperone activity of Hsp70/Hsc70. *EMBO J* 1997; 16: 4887-4896 [PMID: 9305631 DOI: 10.1093/emboj/16.16.4887]
- 29 Nollen EA, Brunsting JF, Song J, Kampinga HH, Morimoto RI. Bag1 functions in vivo as a negative regulator of Hsp70 chaperone activity. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1083-1088 [PMID: 10629065 DOI: 10.1128/MCB.20.3.1083-1088.2000]
- 30 Shu ZHENG, Jimin SHAO, Qi DONG, Jiaping PENG, Suzhan ZHANG. Characterization of ST13 protein expression in human colorectal cancer tissues. *Chinese-German J Clin Oncol* 2005; 4: 2-7 [DOI: 10.1007/s10330-004-0347-4]
- 31 Castells A, Gusella JF, Ramesh V, Rustgi AK. A region of deletion on chromosome 22q13 is common to human breast and colorectal cancers. *Cancer Res* 2000; 60: 2836-2839 [PMID: 10850424]
- 32 Longo L, Platini F, Scardino A, Alabiso O, Vasapollo G, Tessitore L. Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2476-2485 [PMID: 18723493 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0361]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝X受体与肝脏疾病

贺晓敏, 柳长柏

贺晓敏, 柳长柏, 三峡大学分子生物学研究所 湖北省宜昌市 443002

贺晓敏, 硕士, 主要从事基因治疗方向的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81070348

作者贡献分布: 本文综述由贺晓敏完成; 柳长柏审校.

通讯作者: 柳长柏, 教授, 硕士生导师, 443002, 湖北省宜昌市西陵峡大学路8号, 三峡大学分子生物学研究所. cblu@ctgu.edu.cn
电话: 0717-6397179

收稿日期: 2013-06-28 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Liver X receptors and liver diseases

Xiao-Min He, Chang-Bai Liu

Xiao-Min He, Chang-Bai Liu, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070348

Correspondence to: Chang-Bai Liu, Professor, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China. cblu@ctgu.edu.cn

Received: 2013-06-28 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Liver X receptors (LXR) are members of the nuclear receptor superfamily, which have important roles in cholesterol metabolism, glucose metabolism, lipid metabolism and inflammatory reactions. Although liver X receptors are expected to become targets for the treatment of liver fibrosis, nonalcoholic hepatitis, viral hepatitis and other liver diseases, they may lead to liver steatosis. Therefore, it is of great importance to understand the direct target genes of LXRs for regulation of cholesterol metabolism and inflammatory reactions and find specific LXRs agonists or antagonists.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver X receptors; Hepatic lipogenesis; Liver fibrosis; Hepatitis

He XM, Liu CB. Liver X receptors and liver diseases.

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3067-3071
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3067.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3067>

摘要

肝X受体(liver X receptors, LXRs)是核受体超家族的成员,在胆固醇代谢、糖代谢、脂代谢和炎症反应的过程中发挥着重要作用,有望成为非酒精性脂肪性肝炎、病毒性肝炎和肝纤维化等肝脏疾病的治疗靶点,其不良反应则是可能导致肝脂肪病变.因此,了解LXRs调节胆固醇代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制,研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂,对研究肝脏疾病及LXRs的临床应用将是很好的途径.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝X受体; 肝脏的脂肪生成; 肝纤维化; 肝炎

核心提示: 本文阐述了肝X受体(liver X receptors, LXRs)有望成为非酒精性脂肪性肝炎、病毒性肝炎和肝纤维化等肝脏疾病的治疗靶点的优势及可能导致肝脂肪病变的劣势,为研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂及肝脏疾病的探讨提供了新思路.

贺晓敏, 柳长柏. 肝X受体与肝脏疾病. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3067-3071 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3067.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3067>

0 引言

核受体是一组依赖配体激活的转录因子,可对其靶基因的表达进行调节,从而调控机体新陈代谢、发育、增殖和炎症反应^[1].肝X受体(liver X receptors, LXRs)是核受体超家族成员之一,需被氧化型的胆固醇或胆固醇生物合成途径中的一些中间代谢产物激活^[2].随着细胞学、分子生物学等基础医学科学的发展和应用,人们对LXR的研究和认识不断深入,发现其在肝脏疾病中发挥着极其复杂的作用.本文将就LXR与肝脏疾病关系的最新进展进行简要阐述.

■背景资料

本文简要阐述了肝X受体(liver X receptors, LXRs)与肝脏疾病关系的最新进展,意在解读LXR对肝脏疾病的利弊,探讨其存在的问题,为肝病的治疗提供可能的发展方向.

■同行评议者

胡国信, 副教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院传染科; 李永翔, 教授, 主任医师, 博士生导师, 普外科腔镜外科主任, 安徽医科大学第一附属医院普外科

■研发前沿

本文介绍的LXR对肝病有利有弊,目前着重于研究LXRs调节脂质代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制,旨在研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂,使其应用于临床。

1 LXR的概况

LXR可分为两个亚型,即:LXR α 和LXR β ,二者的DNA结合域和配体结合域有大约80%的氨基酸同源性。LXR α 仅在脾脏、肝脏、脂肪组织、肠、肺、肾及巨噬细胞中有高表达,而LXR β 则几乎在所有组织中都有表达^[3]。作为核受体家族的成员,LXRs由4个独立的区域组成:(1)氨基端配体非依赖的转录活化域;(2)具有两个锌指结构的DNA结合域;(3)缺乏配体时可招募共抑制物的铰链区;(4)羧基端疏水的配体结合域及转录活化域^[4]。

大量研究表明,一些氧化的胆固醇衍生物是LXRs的天然激动剂,包括22(R)-羟基胆固醇、20(S)-羟基胆固醇、24(S)-羟基胆固醇、24(S),25-环氧胆固醇、27-羟基胆固醇及胆固醇生物合成中的一些中间产物^[5]。此外,一些来源于植物的复合物如植物固醇 β 谷甾醇以及D-葡萄糖和D-葡萄糖六磷酸^[6]也可以活化LXRs。除天然的激动剂之外,一些合成和半合成的复合物也能激活LXRs,例如T0901317和GW3965,他们已广泛应用到对LXRs信号研究上,但他们对LXR的亚型并没有选择性^[7]。最近有研究证实,一些复合物可以特异性的结合到LXR的其中一个亚型上。例如一些喹啉酮类化合物^[8]、N,N-二甲基-3 β -羟基-胆酰胺^[9]和WAY-252623^[10]已经被证实对LXR β 有更高的亲和力。

LXRs被天然或合成配体激活后,可与视黄醇类X受体(retinoid X receptor, RXRs)形成异二聚体复合物,进而结合到靶基因启动子区LXR反应元件(liver X receptor response element, LXRE)上,从而诱导一系列与脂代谢和糖代谢相关的靶基因的表达。LXRE是一组被4个随机核苷酸分隔的核心序列为AGGTCA的正向重复序列^[11]。

LXRs是机体的胆固醇感应器^[12],也是肝脏脂肪更新的关键调节因子^[13];并反向调节巨噬细胞中炎症因子基因的表达,例如抑制包括IL-6和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)等一些炎症因子的产生^[14]。最近的研究还发现,LXRs具有调节免疫应答的能力,应用其配体可减轻小鼠动脉粥样硬化和接触性皮炎,抑制抗原刺激的T细胞增殖^[15]。

2 LXR与肝脏疾病

2.1 LXR与肝脏的脂肪生成 LXRs与肝脏的脂代谢密切相关,可通过上调固醇调节元件结

合蛋白(sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)表达参与肝脏中脂肪酸的生物合成^[16,17]。SREBP-1c的下游靶基因包括乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)^[18],脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)^[19]和硬脂酰基-辅酶A脱氢酶(stearoyl-CoA desaturase 1, SCD1)^[20],这3个基因的启动子都含有功能性的LXREs,而其表达直接被LXRs调节。研究表明LXR $\alpha^{-/-}$ 和LXR $\alpha\beta^{-/-}$ (双基因敲除)小鼠的SREBP-1c及其靶基因,包括FAS和SCD-1的表达都被下调,使肝脏及血浆中的甘油三酯水平(triglyceride, TG)下降^[21];而LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠体内SREBP-1c和脂肪生成相关基因的表达仍然正常,说明LXR的两个亚型中,LXR α 在肝脏脂肪生成的调节中发挥重要作用。人工合成的LXRs激动剂T0901317可增加野生型小鼠和LXR $\beta^{-/-}$ 小鼠肝脏ACC、FAS和SCD-1的表达,但对LXR $\alpha^{-/-}$ 或LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠则无此作用。类似的现象在特异性高表达肝脏LXR α 和LXR α 特异性配体的小鼠中也能观察到,进一步证实了LXR α 通过上调SREBP-1c的表达促进肝脂肪生成^[22-24]。

最新研究表明,糖类调节元件结合蛋白(carbohydrate response element-binding protein, ChREBP)也是LXRs的直接靶基因,他是葡萄糖敏感转录因子,可将肝脏中过剩的糖类转化为脂质。ChREBP基因的启动子包含两个LXREs,用T0901317处理野生型小鼠后可增加ChREBP的mRNA水平和蛋白活性,脂肪生成相关基因ACC、FAS和SCD-1的表达也都被上调^[25]。

血管生成素类似蛋白3(angiopoietin like protein3, Angptl3)是肝脏中的一个蛋白,可增加血浆中TG和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、胆固醇水平。最近的研究发现,Angptl3可增加肥胖/糖尿病小鼠模型和野生型小鼠血浆中的TG水平,且Angptl3是LXR的一个直接的靶基因,其激动剂T0901317处理Angptl3 $^{-/-}$ 小鼠并不能增加血浆中的TG水平^[26]。

Zhou等^[23]发现在脂肪酸转移酶(fatty acid transferase, FAT)/CD36的启动子区域有功能性的LXREs,并证实LXR配体可诱导其表达。T0901317处理FAT/CD36 $^{-/-}$ 小鼠时,肝脂肪性变减轻,脂肪生成减少。

又有研究指出LXR可能通过促进肝脏中低密度脂蛋白-甘油三酯积累,也可能通过磷脂转运蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)促进中低密度脂蛋白的分泌引起高甘油三酯血症^[27]。

T0901317处理野生型小鼠可上调PLTP的蛋白表达及活性^[28]。

以上研究都表明, LXR_s可通过结合LXRE_s上调SREBP-1c、ChREBP、Angptl3及其下游相关功能蛋白的表达, 导致高甘油三酯血症和肝脂肪病变, 甚至脂肪肝的形成。

2.2 LXR与肝炎 LXR_s参与调节胆固醇代谢^[29]和炎症反应^[30], 与非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发病密切相关^[31]。研究表明LXR_s的活化可促进胆固醇的逆向转运, 增加肝脏内胆酸合成过程中的限速酶的转录, 促进胆固醇转变为胆汁酸^[32], 加速低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)的降解, 从而减少肝细胞内胆固醇的摄取^[33], 调节胆固醇代谢。此外, 研究还显示体外培养的巨噬细胞经细菌感染或脂多糖刺激后, LXR_s的活化可抑制一些炎症因子的表达^[34]。用LXR_s激动剂GW3965刺激大鼠原代肝巨噬细胞可通过抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达, 从而减轻肝脏炎症^[35]。胆固醇代谢失衡及肝脏内大量游离脂肪酸的堆积将加速NASH的病理进程^[36], 研究表明过量饮食胆固醇会加重高脂模型小鼠的肝脏炎症, 而LXR_s的活化可减轻肝脏炎症, 也会减少肝脏中胆固醇的积累^[37,38]。因此, LXR_s的活化可能有抑制NASH的作用。

除NASH外, LXR_s也参与了病毒性肝炎的病理进程。HBx是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)基因组编码的一种蛋白, 能增强HBV前基因组的转录及HBV的复制^[39]。研究证明HBx可通过活化LXR α 诱导脂肪生成因子SREBP1和FAS的表达^[40]。进一步研究还证实LXR α 可以介导伴随HBV感染的肝脂肪性变等疾病, 其机制正是由于HBx与LXR α 相互作用, 增强LXR α 的表达与活性, 细胞内脂质积累, 造成肝脏代谢的紊乱, 引起肝炎等疾病^[41]。由此可见, LXR α 促进了HBV感染所致的肝脏疾病。

研究发现, LXR_s也可能抑制丙型肝炎病毒(hepatitis C Virus, HCV)的感染。Agnello等^[42], Monazahian等^[43]证实LDLR对HCV进入细胞是必需的。HCV会与极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)形成复合物, VLDL在脂蛋白脂肪酶的作用下变成中等密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL), 而IDL或LDL与HCV形成的复合物可以被肝细胞膜上的LDLR识别, 并进而摄取进入细胞。Zelcer等^[33]研

究表明E3泛素连接酶(Inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor, IDOL)是LXR_s的靶基因, 他可在转录后水平调节LDLR的表达, 促进LDLR的降解。最近Zeng等^[44]研究也证实LXR_s内源性和外源性激动剂都可上调IDOL的表达, 进一步促使LDLR的降解, 显著的抑制了HCV的感染。

2.3 LXR_s与肝纤维化 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)位于肝窦内皮细胞与肝细胞之间的狄氏间隙内, 在肝纤维化进程中起着关键作用^[45]。静止的HSC富含视黄酯、甘油三酯类和胆固醇酯, 并表达许多脂肪生成相关转录因子和脂肪生物合成因子^[46]。肝损伤后, HSC被活化转分化成肌成纤维细胞(myofibroblastic, MFB), 并表达I型胶原和 α -平滑肌肌动蛋白(α -Smooth muscle actin, α -SMA)等标志蛋白, 丧失视黄酯和脂滴储存能力; 同时一些脂肪合成相关转录因子表达降低, 与肝纤维化密切相关^[47,48]。

Beaven等^[49]用LXR_s激动剂处理野生型及LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠HSC时发现, LXR_s活化可抑制野生型小鼠HSC中I型胶原、 α -SMA和一些促炎症因子的表达, 以及MFB形成和肝纤维化的发生, 而在LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠HSC中则无此现象。研究还发现, LXR_s的活化可诱导活化的HSC逆转为静止细胞; 且LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠更易导致肝纤维化。表明LXR_s有可通过抑制HSC的活化达到抗肝纤维化效应。

3 结论

由于具有促进肝脏内胆固醇的清除, 缓解炎症反应, 减轻NASH; 抑制HSC的活化; 促进LDLR降解, 抑制HCV进入细胞等特征, LXR_s有望作为一些肝病的治疗靶点。然而LXR_s的活化可上调脂肪生成基因的表达, 导致肝脂肪病变。因此, 未来研究应该着重于揭示LXR_s调节胆固醇代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制, 研发特异性的LXR_s激动剂或拮抗剂, 避免LXR_s诱导的肝脂肪病变。SR9238是一种新的人工合成LXR反式激动剂, 可有效抑制肝脏的脂肪生成、炎症反应及肝脏脂质积累, 但会抑制血浆内胆固醇的水平^[50]。因此还有待进一步开发LXR_s选择性激动剂或拮抗剂并探讨其治疗肝病中的应用。

4 参考文献

- 1 Müllenbach R, Weber SN, Lammert F. Nuclear receptor variants in liver disease. *J Lipids* 2012;

■ 相关报道

LXR_s激动剂或拮抗剂的研发很值得期待, Griffett人工合成的LXR_s激动剂SR9238可有效抑制肝脏的脂肪生成及炎症反应, 这令人很惊喜, 但其可能抑制血浆内胆固醇的水平, 因此还有待进一步开发LXR_s选择性激动剂或拮抗剂。

■创新盘点

本文全面总结了LXR对肝脏疾病的利弊,旨在为其激动剂或拮抗剂的研发及临床应用提供新的思路。

- 2012: 934707 [PMID: 22523693 DOI: 10.1016/j.cell.2010.09.032.]
- 2 Geyeregger R, Zeyda M, Stulnig TM. Liver X receptors in cardiovascular and metabolic disease. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 524-539 [PMID: 16389454]
- 3 Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A, Horoszewicz K, Beltowski J. Liver X receptors (LXRs). Part I: structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2007; 61: 736-759 [PMID: 18063918]
- 4 Lee JH, Zhou J, Xie W. PXR and LXR in hepatic steatosis: a new dog and an old dog with new tricks. *Mol Pharm* 2008; 5: 60-66 [PMID: 18072748]
- 5 Janowski BA, Grogan MJ, Jones SA, Wisely GB, Kliewer SA, Corey EJ, Mangelsdorf DJ. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXRalpha and LXRbeta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 266-271 [PMID: 9874807]
- 6 Mitro N, Mak PA, Vargas L, Godio C, Hampton E, Molteni V, Kreusch A, Saez E. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature* 2007; 445: 219-223 [PMID: 17187055]
- 7 Ohkoshi N, Shoji S. Reversible ageusia induced by losartan: a case report. *Eur J Neurol* 2002; 9: 315 [PMID: 11985643]
- 8 Bernotas RC, Singhaus RR, Kaufman DH, Travins JM, Ullrich JW, Unwalla R, Quinet E, Evans M, Nambi P, Olland A, Kauppi B, Wilhelmsson A, Goos-Nilsson A, Wrobel J. 4-(3-Aryloxyaryl)quinoline sulfones are potent liver X receptor agonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 209-212 [PMID: 19932617 DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.10.132]
- 9 Kratzer A, Buchebner M, Pfeifer T, Becker TM, Uray G, Miyazaki M, Miyazaki-Anzai S, Ebner B, Chandak PG, Kadam RS, Calayir E, Rathke N, Ahammer H, Radovic B, Trauner M, Hoefler G, Kompella UB, Fauler G, Levi M, Levak-Frank S, Kostner GM, Kratky D. Synthetic LXR agonist attenuates plaque formation in apoE^{-/-} mice without inducing liver steatosis and hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 2009; 50: 312-326 [PMID: 18812595 DOI: 10.1194/jlr.M800376-JLR200]
- 10 Hu B, Unwalla RJ, Goljer I, Jetter JW, Quinet EM, Berrodin TJ, Basso MD, Feingold IB, Nilsson AG, Wilhelmsson A, Evans MJ, Wrobel JE. Identification of phenylsulfone-substituted quinoxaline (WYE-672) as a tissue selective liver X-receptor (LXR) agonist. *J Med Chem* 2010; 53: 3296-3304 [PMID: 20350005 DOI: 10.1021/jm100034x]
- 11 艾正琳, 陈东风, 王晓敏. 肝X受体的研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2013-2015
- 12 Zhao C, Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism. *J Endocrinol* 2010; 204: 233-240 [PMID: 19837721 DOI: 10.1677/JOE-09-0271]
- 13 Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li L, Schwendner S, Wang S, Thoolen M, Mangelsdorf DJ, Lustig KD, Shan B. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev* 2000; 14: 2831-2838 [PMID: 11090131]
- 14 Myhre AE, Agren J, Dahle MK, Tamburstuen MV, Lyngstadaas SP, Collins AJ, Foster SJ, Thiemermann C, Aasen AO, Wang JE. Liver X receptor is a key regulator of cytokine release in human monocytes. *Shock* 2008; 29: 468-474 [PMID: 17724434]
- 15 Pascual-García M, Villedor AF. Biological roles of liver X receptors in immune cells. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2012; 60: 235-249 [PMID: 22696047 DOI: 10.1152/physrev.00004.2011]
- 16 Higuchi N, Kato M, Shundo Y, Tajiri H, Tanaka M, Yamashita N, Kohjima M, Kotoh K, Nakamura M, Takayanagi R, Enjoji M. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology Res* 2008; 38: 1122-1129 [PMID: 18684130 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00382.x]
- 17 Fang DL, Wan Y, Shen W, Cao J, Sun ZX, Yu HH, Zhang Q, Cheng WH, Chen J, Ning B. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells. *Mol Cell Biochem* 2013; 381: 127-137 [PMID: 23703028 DOI: 10.1007/s11010-013-1694-7]
- 18 Talukdar S, Hillgartner FB. The mechanism mediating the activation of acetyl-coenzyme A carboxylase-alpha gene transcription by the liver X receptor agonist T0-901317. *J Lipid Res* 2006; 47: 2451-2461 [PMID: 16931873]
- 19 Joseph SB, Laffitte BA, Patel PH, Watson MA, Matsukuma KE, Walczak R, Collins JL, Osborne TF, Tontonoz P. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 11019-11025 [PMID: 11790787]
- 20 Chu K, Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Stearoyl-coenzyme A desaturase 1 deficiency protects against hypertriglyceridemia and increases plasma high-density lipoprotein cholesterol induced by liver X receptor activation. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 6786-6798 [PMID: 16943421]
- 21 Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobaccaro JM, Shimomura I, Shan B, Brown MS, Goldstein JL, Mangelsdorf DJ. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev* 2000; 14: 2819-2830 [PMID: 11090130]
- 22 Lund EG, Peterson LB, Adams AD, Lam MH, Burton CA, Chin J, Guo Q, Huang S, Latham M, Lopez JC, Menke JG, Milot DP, Mitnaul LJ, Rex-Rabe SE, Rosa RL, Tian JY, Wright SD, Sparrow CP. Different roles of liver X receptor alpha and beta in lipid metabolism: effects of an alpha-selective and a dual agonist in mice deficient in each subtype. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 453-463 [PMID: 16325781]
- 23 Zhou J, Febbraio M, Wada T, Zhai Y, Kuruba R, He J, Lee JH, Khadem S, Ren S, Li S, Silverstein RL, Xie W. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 556-567 [PMID: 18242221 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.037]
- 24 Ferré P, Foufelle F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. *Horm Res* 2007; 68: 72-82 [PMID: 17344645]
- 25 Cha JY, Repa JJ. The liver X receptor (LXR) and hepatic lipogenesis. The carbohydrate-response element-binding protein is a target gene of LXR. *J Biol Chem* 2007; 282: 743-751 [PMID: 17107947]
- 26 Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, Yoshida K, Ando Y, Koishi R, Ueda K, Inaba T, Minekura H, Kohama T, Furukawa H. ANGPTL3 decreases very low density lipoprotein triglyceride clearance by inhibition of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2002; 277: 33742-33748 [PMID: 12097324]
- 27 Grefhorst A, Elzinga BM, Voshol PJ, Plösch T, Kok T, Bloks VW, van der Sluijs FH, Havekes LM, Romijn

- JA, Verkade HJ, Kuipers F. Stimulation of lipogenesis by pharmacological activation of the liver X receptor leads to production of large, triglyceride-rich very low density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2002; 277: 34182-34190 [PMID: 12097330]
- 28 Cao G, Beyer TP, Yang XP, Schmidt RJ, Zhang Y, Bensch WR, Kauffman RF, Gao H, Ryan TP, Liang Y, Eacho PJ, Jiang XC. Phospholipid transfer protein is regulated by liver X receptors in vivo. *J Biol Chem* 2002; 277: 39561-39565 [PMID: 12177004]
- 29 de Boussac H, Pommier AJ, Dufour J, Trousson A, Caira F, Volle DH, Baron S, Lobaccaro JM. LXR, prostate cancer and cholesterol: the Good, the Bad and the Ugly. *Am J Cancer Res* 2013; 3: 58-69 [PMID: 23359865]
- 30 Steffensen KR, Jakobsson T, Gustafsson JÅ. Targeting liver X receptors in inflammation. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 977-990 [PMID: 23738533 DOI: 10.1517/14728222.2013.806490]
- 31 Musso G, Gambino R, Cassader M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Prog Lipid Res* 2013; 52: 175-191 [PMID: 23206728 DOI: 10.1016/j.plipres.2012.11.002]
- 32 Naik SU, Wang X, Da Silva JS, Jaye M, Macphee CH, Reilly MP, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ. Pharmacological activation of liver X receptors promotes reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation* 2006; 113: 90-97 [PMID: 16365197]
- 33 Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, Tontonoz P. LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science* 2009; 325: 100-104 [PMID: 19520913 DOI: 10.1126/science.1168974]
- 34 Hong C, Tontonoz P. Coordination of inflammation and metabolism by PPAR and LXR nuclear receptors. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18: 461-467 [PMID: 18782619 DOI: 10.1016/j.gde.2008.07]
- 35 Wang YY, Dahle MK, Steffensen KR, Reinholt FP, Collins JL, Thiemermann C, Aasen AO, Gustafsson JA, Wang JE. Liver X receptor agonist GW3965 dose-dependently regulates lps-mediated liver injury and modulates posttranscriptional TNF- α production and p38 mitogen-activated protein kinase activation in liver macrophages. *Shock* 2009; 32: 548-553 [PMID: 19295476 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181a47f85]
- 36 吴涛, 季光. 非酒精性脂肪性肝病的代谢发病机制. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2908-2914
- 37 Wouters K, van Bilsen M, van Gorp PJ, Bieghs V, Lütjohann D, Kerksiek A, Staels B, Hofker MH, Shiri-Sverdlov R. Intrahepatic cholesterol influences progression, inhibition and reversal of non-alcoholic steatohepatitis in hyperlipidemic mice. *FEBS Lett* 2010; 584: 1001-1005 [PMID: 20114046 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.01.046.]
- 38 陈洁, 郑瑞丹, 徐成润, 伍伟平. LXR α 在大鼠非酒精性脂肪肝组织中的表达及其意义. 中华实验和临床病毒学杂志 2009; 4: 265-268
- 39 Murakami S. Hepatitis B virus X protein: a multifunctional viral regulator. *J Gastroenterol* 2001; 36: 651-660 [PMID: 11686474]
- 40 Kim K, Kim KH, Kim HH, Cheong J. Hepatitis B virus X protein induces lipogenic transcription factor SREBP1 and fatty acid synthase through the activation of nuclear receptor LXR α . *Biochem J* 2008; 416: 219-230 [PMID: 18782084 DOI: 10.1042/BJ20081336]
- 41 Na TY, Shin YK, Roh KJ, Kang SA, Hong I, Oh SJ, Seong JK, Park CK, Choi YL, Lee MO. Liver X receptor mediates hepatitis B virus X protein-induced lipogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1122-1131 [PMID: 19105208 DOI: 10.1002/hep.22740]
- 42 Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12766-12771 [PMID: 10535997]
- 43 Monazahian M, Böhme I, Bonk S, Koch A, Scholz C, Grethe S, Thomssen R. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol* 1999; 57: 223-229 [PMID: 10022791]
- 44 Zeng J, Wu Y, Liao Q, Li L, Chen X, Chen X. Liver X receptors agonists impede hepatitis C virus infection in an Idol-dependent manner. *Antiviral Res* 2012; 95: 245-256 [PMID: 22713431 DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.06.004]
- 45 高润平, 齐晓艳. 肝纤维化的发生机制与治疗进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2263-2269
- 46 Tacke F, Weiskirchen R. Update on hepatic stellate cells: pathogenic role in liver fibrosis and novel isolation techniques. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 67-80 [PMID: 22149583 DOI: 10.1586/egh.11.92]
- 47 Blaner WS, O'Byrne SM, Wongsiriroj N, Kluwe J, D'Ambrosio DM, Jiang H, Schwabe RF, Hillman EM, Piantadosi R, Libien J. Hepatic stellate cell lipid droplets: a specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1791: 467-473 [PMID: 19071229 DOI: 10.1016/j.bbalip.2008.11.001]
- 48 Tsukamoto H, Zhu NL, Asahina K, Mann DA, Mann J. Epigenetic cell fate regulation of hepatic stellate cells. *Hepatol Res* 2011; 41: 675-682 [PMID: 21504520 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00804.x]
- 49 Beaven SW, Wroblewski K, Wang J, Hong C, Bensing S, Tsukamoto H, Tontonoz P. Liver X receptor signaling is a determinant of stellate cell activation and susceptibility to fibrotic liver disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1052-1062 [PMID: 21134374 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.053]
- 50 Griffett K, Solt LA, El-Gendy Bel-D, Kamenecka TM, Burris TP. A liver-selective LXR inverse agonist that suppresses hepatic steatosis. *ACS Chem Biol* 2013; 8: 559-567 [PMID: 23237488 DOI: 10.1021/cb300541g]

■同行评价

本文内容较新颖, 条理较清晰, 有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



¹²⁵I粒子组织间插植治疗肝癌的进展

全宇梭, 曹秀峰

■背景资料

放射性粒子组织间植入近距离治疗恶性肿瘤,是指将放射性粒子直接永久植入肿瘤组织内或是插植于手术切除的肿瘤床、残存癌及淋巴转移的途径,利用其释放低能量光子产生的 γ 射线持续照射肿瘤细胞并将其杀伤的一种新的技术方法。可以减轻手术创伤、缩短手术时间、减少术后并发症;粒子植入与手术和化疗配合,有望提高肿瘤治疗的彻底性,解决在恶性肿瘤治疗中起关键作用的肿瘤局部复发与再生问题;能够有效延长患者生存期和提高患者的生存质量。

全宇梭, 曹秀峰, 南京医科大学附属南京医院肿瘤中心外科
江苏省南京市 210006

全宇梭, 在读研究生, 主要从事¹²⁵I粒子植入治疗恶性肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由全宇梭完成; 曹秀峰负责审核。

通讯作者: 曹秀峰, 教授, 210006, 江苏省南京市雨花台区共青团路32号, 南京医科大学附属南京医院肿瘤中心外科。
cxf551101@sina.com

收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-18

Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma

Yu-Suo Tong, Xiu-Feng Cao

Yu-Suo Tong, Xiu-Feng Cao, Department of Surgery, Oncology Center, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiang su Province, China

Correspondence to: Xiu-Feng Cao, Professor, Department of Surgery, Oncology Center, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, 32 Gongqingtan Road, Yuhuatai District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. cxf551101@sina.com

Received: 2013-06-27 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-18

Abstract

¹²⁵I seeds have good physical and radiobiological characteristics. Interstitial brachytherapy has advantages of minimal invasive, precise stereotactic treatment and high local control rate and plays an important role in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). Brachytherapy with ¹²⁵I seeds has been used in unresectable HCC, HCC with portal vein tumor thrombus, intrahepatic cholangiocarcinoma, hepatic metastases, and some other tumors, providing encouraging survival rates. Radiation-related complications are rare in highly selected patients. In a word, ¹²⁵I brachytherapy is a safe and effective treatment for newly diagnosed or recurrent unresectable intrahepatic malignancies and can provide better survival rates and decent quality of life.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: ¹²⁵I seeds; Brachytherapy; Hepatocellular carcinoma

Tong YS, Cao XF. Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3072-3077 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3072.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3072>

摘要

¹²⁵I粒子由于其良好的物理学及放射生物学特性,并且组织间插植治疗具有损伤小,精确适形、肿瘤局部控制率高等优点,在肝癌的非手术治疗中起到了越来越重要的作用。目前¹²⁵I粒子植入主要治疗不能手术切除的原发性肝癌、肝癌合并门静脉癌栓、胆管细胞癌、肝转移癌等,并且对于严格选择的患者鲜有并发症发生。总的来说,对于新发或者复发不能手术切除或完全切除的原发性肝癌或肝转移癌,粒子植入治疗能够显著改善患者的生存率和生活质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: ¹²⁵I粒子; 组织间插植治疗; 原发性肝癌

核心提示: 植入治疗由于持续低剂量率照射作用于各个细胞周期,阻断细胞周期活动,同时由于其持续的低剂量照射增加了再氧合均提高了肿瘤组织的放射敏感性。

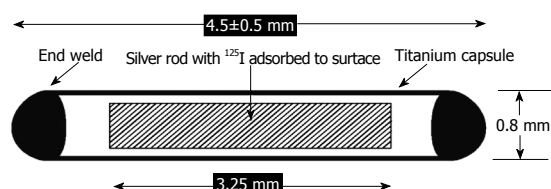
全宇梭, 曹秀峰. ¹²⁵I粒子组织间插植治疗肝癌的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3072-3077 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3072.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3072>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤,在全球范围内HCC的发病率在所有恶性肿瘤中居第6位,在恶性肿瘤致死率中居第3位,据统计仅2008年新诊断HCC患者人数就接近70万例,由于其较高的致死率,使得其发病率和死亡率近乎相等^[1,2]。目前HCC治疗首选手术切除或原位肝移植,但是由于缺乏早期临床症状,大部分患者就诊时已发生肝外转移或血管侵犯以及供体缺乏等原

■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

图1 ^{125}I 粒子模型示意图。

因, 能够从手术治疗中获益的患者不足15%^[3]. 对于不能手术切除的患者, 目前肝动脉化学栓塞(transhepatic arterial chemoembolization, TACE)治疗成为首选^[4], 但由于肿瘤较大, 肿瘤的双重血供等原因, 使得部分肿瘤不能达到完全坏死, 造成肿瘤在局部或邻近组织复发的可能性增加^[5]. 近年来由于放射性生物学观念的转变以及三维适形等放疗技术不断进步, 使得外放疗治疗HCC取得一定进步, 但因治疗剂量(>60 Gy, 而正常肝脏耐受剂量为30 Gy)可能造成严重放射性肝脏损伤以及周围脏器如小肠、肾脏等放射剂量限制等, 在一定程度上限制其应用及疗效^[6-8]. ^{125}I 粒子植入治疗肿瘤已有近60年历史, 通过组织间插植治疗的方式用于多种肿瘤的治疗, 如前列腺癌、脑胶质瘤、头颈部肿瘤、胰腺癌等^[9-13], 特别在前列腺癌和脑胶质瘤的治疗中, 已取得了较好的临床效果^[13]. ^{125}I 粒子植入治疗肝癌已有近20年历史, 由于其良好的物理及放射生物学特性, 在肝癌的局部治疗中发挥越来越重要的作用. 长期随访表明患者的生存率和生活质量均得到显著改善. 本文总结国内外近10年来 ^{125}I 粒子植入治疗肝癌的相关文献, 就 ^{125}I 粒子的物理学及放射生物学特性、技术方法、适应症、生存率、存在问题等做一综述.

1 ^{125}I 粒子组织间插植治疗

1.1 ^{125}I 粒子的物理特性 ^{125}I 粒子呈圆柱形, 外层由钛金属包被, 长4.5 mm, 直径0.8 mm^[14](图1), 单个粒子的放射性活度约为0.5-0.8 mCi, 半衰期为59.4-60.2 d, 初始剂量率为7 cGy/h, 240 d释放总治疗剂量的94%^[15,16], ^{125}I 粒子主要通过电子俘获衰变, 共释放3种类型的射线, 分别为27.4 keV X线, 31.4 keV γ 线, 35.8 keV γ 线, 平均射线能量为28.5 keV. ^{125}I 粒子为低能放射性核素, 在组织中的半价层为17 mm, 而在铅则为0.025 mm^[15], 从而使对医务人员的防护简单易行. 常用于植入治疗肝内肿瘤的放射性粒子 ^{192}Ir 、 ^{90}Y 、 ^{103}Pd 的物理性质比较见^[17-19](表1).

1.2 组织间插植治疗 组织间插植治疗是将具有

放射性功能的核素所制成的籽源经术中或在CT或B超等的引导下植入肿瘤部位. 通过放射性核素衰变所产生的射线持续不断的照射达到杀伤肿瘤的目的^[20]. 组织间插植治疗属于内照射范畴, ^{125}I 粒子释放的 γ 射线在组织间可通过直接和间接两种方式发挥作用, 如 γ 射线直接作用于有生物活性的大分子, 如核酸和一些酶类等, 通过电离激发引起化学键的断裂, 导致肿瘤细胞代谢和功能障碍, 或通过光电效应、康普顿效应等产生次级电离, 产生大量氧化自由基, 间接造成生物大分子的损伤, 达到杀伤肿瘤细胞的作用^[21]. 这种治疗具有高度的适形性, 使得肿瘤靶区具有较高的照射剂量, 而周围正常组织受照射剂量较少. 当然组织间插植治疗不等同与常规放疗, 传统的放射治疗的剂量率一般为200 cGy/min, 而组织间插植治疗则要低的多, 一般低于100 cGy/h, 这种低剂量率的持续照射由于损伤修复在受到亚致死剂量照射的周围正常组织明显高于肿瘤治疗区, 减少周围正常组织的放射性损伤, 提高了治疗效果^[15]. 使得组织间插植治疗对于不能手术切除的HCC、肝转移癌具有良好的应用前景.

1.3 ^{125}I 粒子生物学特性 不同的细胞分裂周期对射线的敏感性是不同的, 其中放射敏感最高的时相是在有丝分裂期(M)和DNA合成后期(G_2)^[22]. ^{125}I 粒子植入治疗由于持续低剂量率照射作用于各个细胞周期, 阻断细胞周期活动, 同时由于其持续的低剂量照射增加了再氧合均提高了肿瘤组织的放射敏感性. 克服传统外放疗作用于单个细胞周期、乏氧细胞对射线抗拒等缺点^[23]. 在Cron等^[24]利用大鼠研究 ^{125}I 粒子持续的低剂量照射对肿瘤微环境的改变(如灌注、氧分压)的研究中, 结果显示: 在粒子植入的3 d后, 距离粒子2-4 mm处血流灌注明显增加, 而 PO_2 (氧分压)增加, 则是在植入后的1-3 d. 因此此时如果同时合并常规放疗, 应该在粒子植入后的1-3 d进行, 因为此时 PO_2 较高, 增加了肿瘤对射线的放射敏感性. 同样如果合并同步化学治疗, 应该在粒子植入后的3-4 d进行, 因为此时血流灌注较高.

2 技术方法

所有需要粒子植入的患者均必须有明确的影像学或病理学诊断. 粒子植入具体方法在很多文献中都有详细的报道, 常见单纯粒子植入、手术、放疗或TACE联合粒子植入等^[25-27]. 在单纯

■ 研发前沿

如何提高肝癌患者远期生存率是当前临床医生面临的比较棘手的问题, 也是今后我们研究的热点. 粒子植入联合手术以及放化疗的综合治疗将在一定程度上使部分肝癌患者受益.

■相关报道

在曹秀峰等^[125]粒子组织间植入治疗恶性肿瘤的现状和未来的研究中,详细阐述了¹²⁵I粒子的治疗恶性肿瘤的中应用,以及目前存在的一些不足。

表 1 常用于治疗肝内肿瘤的放射性核素物理性质比较

	¹²⁵ I	¹⁹² Ir	⁹⁰ Y	¹⁰³ Pd
半衰期($T_{1/2}$)	59.4-60.2 d	74.5 d	64.2 h	17 d
平均能量(keV)	28	360	937	21
射线类型	α 、 γ	γ	β	γ
组织半价层(mm)	17	63	2.5	16
初始计量率(cGy/h)	7	40	?	18

粒子植入过程中: (1)首先在粒子植入前根据患者的CT或MRI信息确定肿瘤的大小、位置、形状,边界以及和周围重要组织的关系,然后将患者的信息输入治疗计划系统(treatment planning system, TPS)模拟布源,计算出所需匹配周边剂量(matched peripheral dose, MPD),根据单个粒子活度计算所需的植入的粒子总数以及每个粒子植入的位置; (2)在粒子植入时通过CT或B超确定体表穿刺点,局麻后经皮肤快速穿刺至患者肝脏,按照CT或超声引导将18 G穿刺针定位于肿瘤部位,然后按照术前计划后退式植入¹²⁵I粒子,每个粒子间距0.5-1 cm(单个粒子在1.7 cm内具有杀伤肿瘤细胞的作用),然后退出穿刺针,局部压迫止血。在我国因为HCC患者多合并肝硬化以及凝血功能障碍,因此穿刺点应选择在肝组织及大血管较少的部位,并且当穿刺针到达肝包膜时,应嘱患者屏气,减少呼吸运动造成的肝脏损伤出血;对于严重黄疸的患者应首先改善黄疸后减轻肿瘤水肿再行粒子植入; (3)在植入完成后再次复查CT,并和之前的定位CT进行比较,进行质量验证,以确保粒子植入位置准确,对可能出现的“冷区”进行及时补种; (4)术后进行常规的止血及预防感染治疗,并留院观察3-7 d^[23]。

3 ¹²⁵I粒子临床应用及生存率

¹²⁵I粒子组织间插植主要治疗不能手术切除的HCC、HCC合并门静脉癌栓(portal vein tumor thrombosis, PVTT)、胆管细胞癌、肝转移癌等,同时也可以联合手术、放疗或TACE等治疗。所有患者在治疗开始前应检查血常规、肝肾功能、凝血功能等,对于WBC $<3.0 \times 10^9/L$; PLT $<70 \times 10^9/L$; 严重地凝血功能障碍、KPS评分 <60 分; 肝功能child-push分级C级; 预计生存时间 <3 mo的患者则不能纳入本治疗。 (1)¹²⁵I粒子植入治疗HCC: 根治性手术切除术或肝移植一直是HCC治疗的首选,对于严格选择的患

者,患者的5年生存率可达60%-70%^[28],然而大部分患者在确诊时已属中晚期以及合并肝硬化和肝脏储备功能的差异等因素,能够根治性切除的患者通常不足30%,并且术后每年约有25%的肿瘤复发,不能根治性切除的患者平均生存时间不超过1年^[29,30],而¹²⁵I粒子单纯植入治疗或联合手术或TACE的综合治疗对此类患者提高整体生存率,预防局部复发中起到了非常重要的作用。在Lin等^[31]1.5 T磁共振引导下¹²⁵I粒子植入治疗肝癌的报道中,23例患者中位随访期23.5 mo,1年、2年生存率分别为95.7%、82.7%,平均生存时间为18 mo,近期疗效显著。在Chen等^[32]报道了手术联合¹²⁵I粒子植入治疗肝癌的研究中,68例患者分为单纯手术组(34例)和术后联合¹²⁵I粒子植入治疗组(34例),中位随访期47.6 mo,术后肿瘤复发时间联合治疗组显著长于单纯手术组(60 mo vs 36.7 mo),并且治疗后1、3、5年生存率联合治疗组也显著优于单纯治疗组(94.12%, 73.53%, 55.88% vs 88.24%, 52.94%, 29.41%)。在宋进华等^[33]¹²⁵I粒子植入联合TACE治疗肝癌的研究中,观察组(28例, TACE联合¹²⁵I粒子植入治疗)治疗后4 mo控制率以及1年生存率分别为75%和72%,较之对照组(32例,单纯TACE治疗)37.5%和43.3%均有明显提高; (2)HCC合并PVTT: 原发性肝癌较易侵犯门静脉,约有30%-62.2% HCC患者合并PVTT,癌栓阻断门静脉血流,加重肝硬化患者门静脉高压,并且PVTT是肝内转移以及治疗后复发的主要原因,是影响患者预后的重要因素之一,此类患者如未加治疗,平均生存时间仅为2.4-4 mo^[14,34,35]。传统外科手术、外放疗以及全身化疗等疗效均欠佳,在Chuan-Xing等^[36]TACE联合¹²⁵I粒子植入治疗HCC合并PVTT的研究中,b组(TACE联合门静脉扩张以及粒子植入)中位生存期显著优于a组(TACE联合门静脉扩张),8.9 mo vs 5.7 mo,以及罗剑钧等^[37]报道的¹²⁵I粒子联合支架及TACE治疗PVTT的研究中,50例患者平均生存370.1 d,较之Le Treut等^[38]报道的对26例原发性肝癌伴门静脉癌栓患者行手术切除,平均生存时间9 mo,以及Yamada等^[39]报道的对19例原发性肝癌合并门静脉癌栓患者行三维适形放疗联合肝动脉化疗,总的有效率为57.6%,1年和2年生存率分别为40.6%和10.2%均有提高; (3)胆管细胞癌: 胆管细胞癌是仅次于HCC的肝内原发性恶性肿瘤,由于其高度恶性的病理学特性,使得能够手术治疗患者不足40%,并且术后50%-80%患者存在

复发可能^[40,41]. 在曹贵文等^[42] ^{125}I 粒子植入治疗胆管细胞癌的研究中, 植入术后6 mo、1、3年的生存率分别为90.6%(29/32)、74.3%(26/32)、40%(14/32). Nag等^[43]报道中4例胆管细胞癌患者, 2例分别无病生存20及40 mo, 以及吕进等^[25]的报道中2例胆管细胞癌患者在随访结束时(40 mo)仍然存活, 表现出 ^{125}I 粒子在胆管细胞癌治疗方面的优势; (4)其他肝内恶性肿瘤: 结直肠癌患者易发肝转移, 15%-25%结直肠癌患者在最初确诊时就已经发生肝脏转移, 而最终约有50%的结直肠癌患者发生肝脏转移, 这类患者手术切除仍是首选, 可使5年生存率达到50%-60%, 然而由于肝内转移瘤常为多发性, 肿瘤临近大血管, 肝外其他疾病等, 使得能够手术切除的患者不足20%, 不能手术的患者5年生存率近乎为0^[44,45]. 而 ^{125}I 粒子植入治疗肝内转移癌在大量文献报道中表现出较好的临床价值. 在Nag等^[43]报道的 ^{125}I 粒子治疗肝内恶性肿瘤的长期随访中, 60例结直肠癌合并肝转移患者1、3、5年的生存率分别为73%、23%、5%, 中位生存时间20 mo, 在这次长期随访研究中, Nag等^[43]发现粒子植入后患者的生存率与肝内转移癌的数目、之前肝脏是否进行手术切除以及粒子植入靶区的大小具有明显的相关性. 植入前肝脏未行手术切除, 肝内转移瘤单发, 粒子植入靶区 $<20\text{ cm}^3$ 是提示预后良好的重要标志.

4 ^{125}I 粒子植入治疗存在的问题

(1)目前大量文献报道了肝内肿瘤粒子植入术后的并发症, 特别是穿刺引起的大出血在一定程度上限制了粒子植入的治疗, 但在CT或B超穿刺前的精确定位下, 这种情况鲜有发生. 其他如放射性肺炎、放射性肠炎、粒子迁移、放射性肝炎、胆汁瘘、胰瘘、肝衰竭等^[46-48]发生率均远低于TACE以及外放疗相关并发症发生率; (2)目前 ^{125}I 粒子治疗肝癌方面尚无统一的剂量标准, 相关数据及方法多来自粒子植入治疗前列腺癌的研究以及来自医生的临床经验. 最佳处方剂量以及最佳粒子活度的确定仍需我们进一步的研究; (3) ^{125}I 虽属于低能放射性核素, 但在治疗过程中仍有可能存在放射性污染问题, 以及对患者及其周围人群的剂量监测和防护一直被忽视, 这些仍需引起我们足够的重视; (4) ^{125}I 初始剂量率相对较低(7.7 cGy/h), 适合分化程度较好、恶性程度低的肝癌, 而对于生长迅速、分化较差的肝癌则不太适合. 目前肝癌粒子植入治疗多

为单一粒子植入, 复合粒子植入治疗仍相对较少. 新型复合粒子的出现或将有助于解决不同分期、不同分化程度肝癌治疗问题.

5 结论

^{125}I 粒子组织间插植治疗是HCC重要的辅助治疗手段, 其优良的物理及放射生物学特性, 以及组织间插植具有损伤小、高度适形, 局部控制率高等优点使得其在HCC的局部治疗中发挥越来越重要的作用, 提高了患者的生存率和生活质量. 然而组织间插植治疗仅为局部治疗, 而肿瘤为全身性疾病, 如何在综合治疗中发挥作用, 提高患者的远期预后, 仍需要我们进一步的实验和研究.

6 参考文献

- 1 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 3 Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figuer A, De Greve J, Douillard JY, Lathia C, Schwartz B, Taylor I, Moscovici M, Saltz LB. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4293-4300 [PMID: 16908937 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.3441]
- 4 Liao M, Huang J, Zhang T, Wu H. Transarterial chemoembolization in combination with local therapies for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e68453 [PMID: 23844203 DOI: 10.1371/journal.pone.0068453]
- 5 Muhammad A, Dhamija M, Vidyarthi G, Amodeo D, Boyd W, Miladinovic B, Kumar A. Comparative effectiveness of traditional chemoembolization with or without sorafenib for hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2013; 5: 364-371 [PMID: 23898369 DOI: 10.4254/wjh.v5.i7.364]
- 6 Ibrahim SM, Lewandowski RJ, Sato KT, Gates VL, Kulik L, Mulcahy MF, Ryu RK, Omary RA, Salem R. Radioembolization for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: a clinical review. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1664-1669 [PMID: 18350597]
- 7 曾昭冲. 肝细胞肝癌放射治疗现状与展望. *中华放射肿瘤学杂志* 2009; 16: 961-965
- 8 王中堂, 李宝生, 闫婧, 张自成, 尹勇, 刘娟. 原发性肝癌三维适形放疗后放射性肝病的相关因素分析. *中华放射肿瘤学杂志* 2007; 16: 281-285
- 9 Heysek RV. Modern brachytherapy for treatment of prostate cancer. *Cancer Control* 2007; 14: 238-243 [PMID: 17615529]
- 10 Ruge MI, Simon T, Suchorska B, Lehrke R, Hamisch C, Koerber F, Maarouf M, Treuer H, Berthold F, Sturm V, Voges J. Stereotactic brachytherapy with iodine-125 seeds for the treatment of inoperable low-grade gliomas in children: long-term outcome. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4151-4159 [PMID: 21969508]

■创新盘点

本文侧重点在于介绍 ^{125}I 粒子在治疗肝内恶性肿瘤中的应用, 从粒子的生理特性, 放射生物学特征以及技术方法到临床疗效等方面叙述以及目前存在相关不足, 使读者能够详细全面了解.

■应用要点

手术切除原发性肝癌以及肝脏转移癌仍然是治疗肝内恶性肿瘤最佳方法。临床实践证明¹²⁵I粒子联合手术或化疗治疗中晚期肝内恶性肿瘤能够延长患者的生存时间。随着这一技术的不断完善, 对治疗恶性肿瘤具有良好的应用前景。

- DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3381]
- 21 Jiang YL, Meng N, Wang JJ, Ran WQ, Yuan HS, Qu A, Yang RJ. Percutaneous computed tomography/ultrasonography-guided permanent iodine-125 implantation as salvage therapy for recurrent squamous cell cancers of head and neck. *Cancer Biol Ther* 2010; 9: 959-966 [PMID: 20873398 DOI: 10.4161/cbt.9.12.11700]
- 22 Wang KX, Jin ZD, Du YQ, Zhan XB, Zou DW, Liu Y, Wang D, Chen J, Xu C, Li ZS. EUS-guided celiac ganglion irradiation with iodine-125 seeds for pain control in pancreatic carcinoma: a prospective pilot study. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 945-952 [PMID: 22841501 DOI: 10.1016/j.gie.2012.05.032]
- 23 曹秀峰, 吕进. 125I粒子组织间植入治疗恶性肿瘤的现状和未来. *中华肿瘤杂志* 2012; 34: 81-83
- 24 Luo J, Yan Z, Liu Q, Qu X, Wang J. Endovascular placement of iodine-125 seed strand and stent combined with chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in main portal vein. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 479-489 [PMID: 21463757 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.11.029]
- 25 Schwarz SB, Thon N, Nikolajek K, Niyazi M, Tonn JC, Belka C, Kreth FW. Iodine-125 brachytherapy for brain tumours--a review. *Radiat Oncol* 2012; 7: 30 [PMID: 22394548 DOI: 10.1186/1748-717X-7-30]
- 26 王东东, 曹秀峰, 王学浩. 放射性粒子125I和103Pd植入治疗肝癌的计量学研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2011; 18: 229-232
- 27 Morgan B, Kennedy AS, Lewington V, Jones B, Sharma RA. Intra-arterial brachytherapy of hepatic malignancies: watch the flow. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 115-120 [PMID: 20924355 DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.153]
- 28 Raben A, Mychalczak B, Brennan MF, Minsky B, Anderson L, Casper ES, Harrison LB. Feasibility study of the treatment of primary unresectable carcinoma of the pancreas with 103Pd brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 35: 351-356 [PMID: 8635943]
- 29 Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, Sato KT, Benson A, Nemcek AA, Gates VL, Abecassis M, Omary RA, Salem R. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology* 2008; 47: 71-81 [PMID: 18027884 DOI: 10.1002/hep.21980]
- 30 王俊杰, 修典荣, 冉维强, 白静, 朱丽红, 刘江平. 术中超声引导放射性125I粒子植入治疗胰腺癌. *中华放射医学与防护杂志* 2005; 25: 431-443
- 31 陈亿, 罗开元, 李湛旭. 125I粒子近距离植入治疗结直肠癌肝转移的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3324-3327
- 32 Wang Y, Ji P, Liu J, Broadus RR, Xue F, Zhang W. Centrosome-associated regulators of the G(2)/M checkpoint as targets for cancer therapy. *Mol Cancer* 2009; 8: 8 [PMID: 19216791 DOI: 10.1186/1476-4598-8-8]
- 33 Zhang FJ, Li CX, Jiao DC, Zhang NH, Wu PH, Duan GF, Wu YX. CT guided 125Iodine seed implantation for portal vein tumor thrombus in primary hepatocellular carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 2410-2414 [PMID: 19102958]
- 34 Cron GO, Beghein N, Crockart N, Chavée E, Bernard S, Vynckier S, Scalliet P, Gallez B. Changes in the tumor microenvironment during low-dose-rate permanent seed implantation iodine-125 brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63: 1245-1251 [PMID: 16253779 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2005.07.971]
- 35 吕进, 曹秀峰. 手术联合125I粒子永久性植入治疗肝癌的临床研究. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 107-110
- 36 戴圣斌, 王忠阳, 仇春勤, 许万松. 三维适形放疗联合125I粒子植入治疗晚期巨块型肝癌的临床观察. *临床肿瘤学杂志* 2010; 15: 1127-1130
- 37 张云峰, 曹贵文, 崔新江, 宁厚法, 杨莉莉. TACE与125I放射性粒子植入序贯治疗HCC的临床研究. *医学影像学杂志* 2010; 9: 1377-1380
- 38 Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S20-S37 [PMID: 18304676 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.022]
- 39 Ye SL, Takayama T, Geschwind J, Marrero JA, Bronowicki JP. Current approaches to the treatment of early hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2010; 15 Suppl 4: 34-41 [PMID: 21115579 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-S4-34]
- 40 Mohnike K, Wiensers G, Pech M, Seidensticker M, Rühl R, Lopez-Haenninen E, Ricke J. Image-guided interstitial high-dose-rate brachytherapy in hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2009; 27: 170-174 [PMID: 19546556 DOI: 10.1159/000218350]
- 41 Lin ZY, Lin J, Lin C, Li YG, Chen SM, Hu JP, Hu R, Chen J. 1.5T conventional MR-guided iodine-125 interstitial implants for hepatocellular carcinoma: feasibility and preliminary clinical experience. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1420-1425 [PMID: 21459532 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.03.043]
- 42 Chen K, Xia Y, Wang H, Xiao F, Xiang G, Shen F. Adjuvant iodine-125 brachytherapy for hepatocellular carcinoma after complete hepatectomy: a randomized controlled trial. *PLoS One* 2013; 8: e57397 [PMID: 23468980 DOI: 10.1371/journal.pone.0057397]
- 43 宋进华, 顾建平, 楼文胜, 何旭, 陈亮, 陈国平, 苏洁波, 汪涛, 曹秀峰. 125I粒子植入联合肝动脉栓塞化疗治疗肝癌. *中华放射学杂志* 2008; 8: 802-806
- 44 Kousidou OC, Mitropoulou TN, Roussidis AE, Kletsas D, Theocharis AD, Karamanos NK. Genistein suppresses the invasive potential of human breast cancer cells through transcriptional regulation of metalloproteinases and their tissue inhibitors. *Int J Oncol* 2005; 26: 1101-1109 [PMID: 15754008]
- 45 Zhang L, Mu W, Hu CF, Huang XQ. Treatment of portal vein tumor thrombus using 125Iodine seed implantation brachytherapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4876-4879 [PMID: 20939119 DOI: 10.3748/wjg.v16.i38.4876]
- 46 Chuan-Xing L, Xu H, Bao-Shan H, Yong L, Pei-Jian S, Xian-Yi Y, Xiao-Ning L, Li-Gong L. Efficacy of therapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: chemoembolization and stent combined with iodine-125 seed. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 865-871 [PMID: 22037354 DOI: 10.4161/cbt.12.10.17676]
- 47 罗剑钧, 颜志平, 王建华, 刘清欣, 瞿旭东, 张雯. 腔内植入125I粒子条及支架联合经动脉化栓治疗原发性肝癌合并门脉主干癌栓的疗效. *中华肿瘤杂志* 2011; 7: 535-539
- 48 Le Treut YP, Hardwigsen J, Ananian P, Saisse J, Grégoire E, Richa H, Campan P. Resection of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the major vasculature. A European case-control series. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 855-862 [PMID: 16769542 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.12.011]

- 39 Yamada K, Izaki K, Sugimoto K, Mayahara H, Morita Y, Yoden E, Matsumoto S, Soejima T, Sugimura K. Prospective trial of combined transcatheter arterial chemoembolization and three-dimensional conformal radiotherapy for portal vein tumor thrombus in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57: 113-119 [PMID: 12909223 DOI: 10.1016/S0360-3016(03)00434-6]
- 40 Fu Y, Yang W, Wu W, Yan K, Xing BC, Chen MH. Radiofrequency ablation for postoperative recurrences of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Chin J Cancer Res* 2011; 23: 295-300 [PMID: 23359754 DOI: 10.1007/s11670-011-0295-9]
- 41 Poultsides GA, Zhu AX, Choti MA, Pawlik TM. Intrahepatic cholangiocarcinoma. *Surg Clin North Am* 2010; 90: 817-837 [PMID: 20637950 DOI: 10.1016/j.suc.2010.04.011]
- 42 曹贵文, 崔新江, 宁厚法, 杨莉莉, 张云峰. ¹²⁵I放射性粒子永久性植入术用于32例高位胆管癌效果观察. *山东医药* 2010; 50: 92-93
- 43 Nag S, DeHaan M, Scruggs G, Mayr N, Martin EW. Long-term follow-up of patients of intrahepatic malignancies treated with iodine-125 brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64: 736-744 [PMID: 16274935 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2005.08.029]
- 44 Tzeng CW, Aloia TA. Colorectal liver metastases. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 195-201; quiz 201-202 [PMID: 23054896 DOI: 10.1007/s11605-012-2]
- 45 中华医学会外科学分会胃肠外科学. 结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(V 2010). *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 457-470
- 46 Gasent Blesa JM, Dawson LA. Options for radiotherapy in the treatment of liver metastases. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 638-645 [PMID: 18940744]
- 47 Zhu AX, Wallner KE, Frivold GP, Ferry D, Jutzy KR, Foster GP. Prostate brachytherapy seed migration to the right coronary artery associated with an acute myocardial infarction. *Brachytherapy* 2006; 5: 262-265 [PMID: 17118321 DOI: 10.1016/j.brachy.2006.08.004]
- 48 Sugawara A, Nakashima J, Shigematsu N, Kunieda E, Kubo A. Prediction of seed migration after transperineal interstitial prostate brachytherapy with I-125 free seeds. *Brachytherapy* 2009; 8: 52-56 [PMID: 19154979 DOI: 10.1016/j.brachy.2008.10.003]

■同行评价

粒子植入治疗在我国只作为第3类医疗技术, 值得去探索. 但我国现在广泛开展此类技术, 而大多数大夫又不知道如何去选择适当患者去开展研究. 因此, 本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的研究进展

李华山, 张欣宇, 王晓锋

■背景资料

肛周湿疹是临床常见病,发病相关因素十分复杂,西医在治疗上主要以外用糖皮质激素为主,但不良反应多,疗效不十分满意,严重影响着患者的生活质量。中药熏洗疗法以其独特的优势,越来越广泛的应用于肛周湿疹的治疗,逐渐成为肛周湿疹的常用治法。

李华山, 张欣宇, 王晓锋, 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京市 100053

李华山, 主任医师, 主要从事肛肠疾病的防治与研究。

作者贡献分布: 本文选题与审校由李华山完成; 文献资料搜集由张欣宇与王晓锋完成; 写作由张欣宇完成。

通讯作者: 李华山, 主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁街5号, 中国中医科学院广安门医院肛肠科. lihuashan@263.net.

电话: 010-88001025

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Herbal fumigation for treatment of perianal eczema

Hua-Shan Li, Xin-Yu Zhang, Xiao-Feng Wang

Hua-Shan Li, Xin-Yu Zhang, Xiao-feng Wang, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Correspondence to: Hua-Shan Li, Chief Physician, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang, Xicheng District, Beijing 100053, China. lihuashan@263.net

Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Perianal eczema is the most common skin condition of the perianal area, which is characterized by itching, various lesions, exudation and recurrence. The key points for the treatment of perianal eczema are to reduce skin lesions, alleviate the discomfort of itching and exudation, and solve the problem of easy relapse. Glucocorticoid therapy is still the main treatment, but it is associated with many adverse reactions and recurrence. Since herbal fumigation is based on syndrome differentiation, follows the principle of individualization, combines local and systemic therapies, and has the advantages of direct contact to perianal skin, exact efficacy, and less adverse reactions, it has gradually become a common treatment for perianal eczema and provides a new alternative to the treatment of this condition. In this paper, we will review the progress in research of herbal fumigation for perianal eczema with regard to mechanism of action, clinical application and adverse reactions.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Herbal fumigation; Perianal eczema; Research progress

Li HS, Zhang XY, Wang XF. Herbal fumigation for treatment of perianal eczema. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3078-3082 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3078.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3078>

摘要

肛周湿疹是肛肠科最常见的皮肤疾患,以瘙痒、皮损多形性、渗出及易复发为特点。治疗重点在于缩小皮损范围,缓解患者肛周瘙痒、渗出等不适症状和解决肛周湿疹易复发等问题,治疗较为棘手。目前最主要的治疗方法仍然是外用糖皮质激素,但不良反应多且停药后易于复发。中药熏洗疗法以中医辨证论治为理论基础,突出个体化原则,注重局部与整体相结合,具有作用直接,疗效显著,不良反应少,患者易于接受等优势,逐渐成为治疗肛周湿疹的常用方法,为治疗提供了新的思路。近年来,对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究取得了一定的进展。本文将从以上角度进行全面综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中药熏洗疗法; 肛周湿疹; 研究进展

核心提示: 肛周湿疹最主要的治法是外用激素,疗效不十分满意。熏洗疗法具有独特优势,逐渐成为治疗肛周湿疹常用方法。本文对熏洗疗法中药物作用的发挥、熏洗的物理作用、皮肤的吸收作用以及临床应用和不良反应等方面的研究进行综述。

李华山, 张欣宇, 王晓锋. 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3078-3082 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3078.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3078>

0 引言

肛周湿疹是肛肠科最常见的皮肤疾患^[1], 约占肛门疾病的1/10左右^[2]。目前最主要的治疗方法仍

■同行评议者

王来友, 副教授, 广东药学院中医药研究院

然是外用糖皮质激素^[3], 但不良反应多且停药后易于复发. 中药熏洗疗法是指将药物水煎或开水冲泡后, 趁热熏蒸, 熏后用药液洗涤患部的一种治疗方法. 中药熏洗疗法以其作用直接, 疗效显著, 不良反应少等优势, 越来越多的应用于肛周湿疹的治疗. 现将近年对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究情况总结如下.

1 中药熏洗疗法的作用机制

1.1 祖国医学对熏洗疗法的认识 中药熏洗疗法源远流长, 实践证明是行之有效的治疗方法. 古代文献称熏洗为“气熨”“淋洗”“溺渍”等^[4]. 熏洗疗法于《五十二病方》中就有相关记载: “……取弱(溺)五斗, 以煮青蒿大把二, 鲋鱼如手者七, 治桂六寸, 干姜(薑)二果(颗), 十沸抒置雍中, (埋)席下, 为穹, 以熏痔, 药寒而休, 日三熏”, 是最早记载熏洗疗法的医学著作.

熏洗疗法作为外治法的重要组成部分, 于《内经》中有“其有邪者, 渍形以为汗”, “寒者热之, 热者寒之……摩之浴之”, 等论述, 其中“渍形”“浴之”即指熏洗, 为熏洗疗法初步奠定了理论基础. 清代吴师机的《理渝骈文》对外治法有较为全面的阐述, 认为“外治之理即内治之理, 外治之药亦内治之药, 所异者, 法耳.”意思是外治与内治之法, 在治则治法、辨证用药上是相同的, 只是给药方法、吸收途径不同而已. 古代文献中记载了较多熏洗疗法的相关论述, 使其发展更为完善, 如《外科精义》: “塌渍疮肿之法, 宜通行表, 发散邪气, 使疮内消也.”《外科大成》: “使气血疏通以舒服其毒, 则易于溃散而无瘀滞也.”《儒门事亲》认为熏洗疗法可归属于“汗法”, 凡宜解表或发汗者皆宜用之, 正如《理渝骈文》: “熏蒸澡洗之能汗, 凡病之宜发表者, 皆可以此法.”

《外科正宗》中记载坐浴可疏通气血、散瘀化滞、解毒脱腐、消肿止血^[5]. 作为常用外治法之一, 中药熏洗疗法以中医基础理论为指导, 辨证论治为基础, 将药物通过熏洗途径给药, 作用直接, 药效直达病所, 加之温热蒸汽刺激人体经络孔窍, 作用于经络、传入脏腑, 整体与局部相结合, 疏通经络、调理气血阴阳、扶正祛邪, 从而治愈疾病. 此外, 熏洗疗法与皮肤的吸收作用密不可分. 清代徐灵胎认为“……使药性从毛孔而入其腠理, 通经贯络, 或提而出之, 或攻而散之, 较之服药尤有力, 此至妙之法也.”

1.2 现代医学研究

1.2.1 熏洗疗法中药物作用的发挥: (1) 中药成分的治疗作用: 肛周湿疹是由多种内、外因素引起的肛门周围皮肤的炎症性皮肤病, 现代医学普遍认为其发病机制为变态反应^[6]. 中药煎煮后产生的蒸汽及药液中含有大量生物碱、氨基酸、甙类、鞣酸和各种微量元素等, 作用于肛周皮肤可抑制5-羟色胺等炎症介质的释放, 降低毛细血管通透性, 改善微循环, 减轻湿疹炎症反应^[7]. 总结近年来常用于治疗肛周湿疹的熏洗方剂, 使用频率较高的中药包括苦参、白鲜皮、蛇床子、地肤子、黄柏、薄荷、当归等. 根据现代药理学研究, 苦参具有免疫抑制作用, 可用于治疗变态反应性疾病等^[8]. 苦参中的苦参碱作为一种公认的低毒不良反应的免疫抑制剂, 实验研究表明可持续的升高淋巴细胞胞浆内游离钙水平, 当细胞内游离钙浓度过高时, T淋巴细胞膜通道可被关闭, 致使淋巴细胞不能被激活或被抑制, 抑制变态反应的发生^[9]. 苦参碱还能通过提高细胞内环磷酸腺苷(cAMP)水平, 阻止肥大细胞脱颗粒释放组胺^[10], 缓解瘙痒症状. 白鲜皮单体提取物(白鲜碱、黄柏酮、岑酮等)可以对抗IV型变态反应和提高致痒阈值, 研究表明, 其可能对效应期T细胞有抑制作用, 阻止5-羟色胺等的释放, 抑制机体对过敏原的过度应激反应, 恢复机体正常免疫功能^[11,12]. 地肤子的主要成分地肤子皂苷是其止痒、抗炎及抑制变态反应的有效成分, 通过稳定肥大细胞膜、减少组胺、5-羟色胺及白三烯等过敏介质的释放发挥作用, 被广泛应用于皮肤瘙痒性疾病的治疗^[13,14]. 此外, 中药外用还具有抗菌、抗病毒、抗寄生虫等的作用, 如黄芩、黄连、黄柏对革兰氏阳性菌、阴性菌具有较强的杀灭作用, 苦参、蛇床子、百部、川椒等可抗霉菌、抗寄生虫等^[15]. 总的来说, 应用于熏洗的中药多具有调节机体免疫功能、抑制变态反应、止痒、抗菌等作用. 如黄开冬等^[16]以苦参汤坐浴治疗100例肛周湿疹患者, 药物组成包括苦参、蛇床子、地肤子、黄柏、白芷、石菖蒲、金银花等, 临床总有效率达89%; (2) 中药的促透皮吸收作用: 皮肤角质层中角质形成细胞与细胞间脂质排列独特, 构成的“砖墙结构”是药物经皮吸收的最大屏障^[17-19]. 药物中的促透成分能可逆的改变角质层的屏障作用, 使皮肤的生理性屏障开放, 达到使药物透皮吸收率增加的目的^[20]. 动物实验表明冰片能可逆的影响细胞间的紧密连接和细

■研究前沿

中药熏洗疗法治疗肛周湿疹应用广泛, 疗效较好, 不良反应少, 在透皮吸收理论发展的基础上, 临床应用逐渐规范化、合理化, 为肛周湿疹的治疗难题提供了新的思路, 因此, 中药熏洗疗法作用机制及其规范化治疗, 将是今后肛周湿疹研究的一个重要方向.

■相关报道

杨伟等以经验方杨布洗剂治疗肛周湿疹60例,以1 wk为一个疗程,疗程结束后1 wk观察疗效。临床总有效率为93.33%,认为该洗剂临床使用简单有效,无不良反应,值得推广。

胞内囊泡的状态,使皮肤的生理性屏障开放^[21,22]。中药促透作用的发挥主要依靠挥发油及芳香成分,而其中所含的萜(烯)类、生物碱类、内酯类等成分,具有与化学合成促渗剂类似的促透作用^[23]。如Kitahara等^[24]研究认为,中药挥发油中的萜(烯)类化合物,作用于皮肤后可不同程度地改变皮肤的理化性质及皮肤的正常生理结构,增加其通透性,并且毒性弱于人工合成品。现代研究进一步证实,烯类可通过破坏角质层磷脂的氢键,扩大水性区域,建立药物通过的极性通道,促进药物的透皮吸收^[25]。具有促透作用的中药较多,大部分促透作用强于合成药氮酮^[26],并且不良反应小,有时可发挥促透和治疗的双重作用,较为常用的有薄荷、冰片、丁香、甘草等。如薄荷所含的薄荷醇属于单萜类化合物,作用于表皮角质层,破坏角化细胞间质,使角质层裂解剥脱,促使表皮细胞间隙扩大,导致皮肤对外来药物的阻滞作用降低,促进药物经表皮细胞间隙透皮扩散^[25]。

1.2.2 熏洗疗法的物理作用: (1)温热作用: 临床上大多采用热熏热洗,药物的经皮吸收是一个需要能量的过程^[27],温度的升高可以一定程度上促进药物的吸收和增加血药浓度^[28]。皮肤局部温度的升高: 使局部毛细血管扩张,增加皮肤血流量;使角质层细胞间类脂发生相互转换,类脂排列紊乱后形成人工支路,成为药物经皮转运的新通道^[29]。此外,热力作用可使网状内皮系统的吞噬功能活跃^[30],从而减轻或消除肛周湿疹的炎症反应。热力还可刺激神经末梢感受器,通过神经反射作用,激发机体自身的调节功能,提高机体免疫力,阻断原有病理反射^[31]; (2)熏洗液的清洁作用: 肛周分泌物等的刺激可在一定程度上诱发或加重湿疹。通过熏洗液的冲洗,可起到清洁肛门分泌物、抑制渗出,清除残留污粪等毒邪的作用,减轻对皮肤的刺激,缓解炎症反应。熏洗液的清洗浸泡,还可加速痂皮等坏死组织的脱落,促进肉芽组织及上皮组织的增生,加速皮损愈合^[32]。

1.2.3 熏洗疗法中皮肤的吸收作用: 熏洗疗法属于经皮给药方式的一种,药物可经皮肤吸收,对局部及全身发挥治疗作用。药物的经皮吸收要经历释放、穿透和吸收入血循环3个阶段^[33]。皮肤作为给药入口,局部给药后: (1)通过皮肤间层贮存作用,使药物浓度平缓,于给药部位发生药效^[34]; (2)药物在皮肤的转运由外向内依次为角质层、表皮层(又称活性表皮)和真皮层^[35]。药物

在角质层中的渗透包括细胞间转运和跨细胞转运,而细胞间转运是其最主要的途径^[36]。前者药物通过角质层细胞间类脂分子层到达活性表皮,后者药物穿过角质层到达活性表皮,此后药物通过活性表皮到达真皮,最终被毛细血管吸收进入血液循环^[33]。角质层中还存在着水性微孔及微小渠道组成的亲水性途径,药物也可由此透过角质层^[37]; (3)药物还可通过皮肤附属器,如毛囊、皮脂腺及汗腺等直接渗透吸收,主要是一些离子型药物成分及水溶性大分子^[33]。药物经皮吸收的最大优点是,避免了药物对胃肠道与肝脏等的损害,同时也避免了胃肠道降解和肝脏的首过效应,给药方便,从而提高药物利用度和患者用药的依从性^[38]。有报道称,皮肤含水量是影响皮肤吸收作用的因素之一,熏洗可以使局部皮肤的角质层含水量增加,角质层经水合作用后,可膨胀成多孔状态,细胞通透性增加,易于药物穿透吸收^[39]。

2 中药熏洗治疗肛周湿疹的临床应用

熏洗疗法广泛应用于肛周湿疹的治疗,疗效显著,如韩凯等^[40]以经验方灭虫止痒剂熏洗治疗肛周湿疹患者30例,在减轻瘙痒、皮损、渗液方面的有效率为96.67%,疗效显著。刘彦涛^[41]以五子参矾洗剂对比激素乳膏外用治疗肛周湿疹的临床疗效,熏洗组总有效率为90.1%,明显高于对照组的68.6%,认为中药熏洗不仅疗效好,而且更适合长期用药,值得临床推广。

李胜桥^[42]对国内近5年报道的19个代表性熏洗方剂进行统计,认为泻湿解毒法应用最多,主要药物为芒硝及大黄。其次为敛湿消肿法,主要药物为五倍子和明矾。清热燥湿法、活血化瘀法、辛香止痛法的应用也过半数。并且清热燥湿药以苦参应用最多,辛香止痛药多选川椒,活血化瘀药则较多应用乳香、没药、桃仁、红花、赤芍、当归等。吴撼平^[43]将肛门湿疹分为湿热证和血虚风燥证。常用的有效中药包括: 苦参、黄柏、苍术、百部、枯矾、地肤子、蛇床子、土茯苓、金银花、花椒、当归等。王中良^[44]根据肛周湿疹的临床表现分为湿热下注及血虚风燥型。前者以急性、亚急性期多见。后者以慢性期多见。其中湿热下注型又分为热重于湿和湿重于热型。邓莉等^[45]将慢性肛门湿疹辨证为血虚风燥挟湿,治以养血活血、祛风止痒的加味桃红四物汤熏洗。治疗慢性肛周湿疹106例,总有效率为95.28%。

肛周湿疹的熏洗治疗常以清热燥湿、活血凉血、祛风止痒为法, 不同学者亦有不同的侧重。文家勇等^[46]认为治疗亚急性和慢性肛周湿疹, 先从控制瘙痒症状入手, 迅速减轻患者不适, 使患者建立信心, 规律用药, 后再以除湿收敛之剂固其疗效。于晓琳^[47]认为在肛周湿疹的治疗方面, 应辨其虚实寒热。实证多以湿热为主, 夹有风邪, 表现为舌红苔腻, 脉弦滑; 虚证则多因血虚风燥, 表现为舌淡苔少, 脉细数; 寒证病程缠绵, 渗液色清无味, 舌淡苔滑; 热证起病急骤, 渗液色黄味臭, 舌苔黄厚。此外, 湿热证瘙痒剧烈, 皮肤潮红灼热; 血虚证瘙痒日轻夜重, 皮损多为鳞屑苔藓化。并以消风散外洗治疗慢性肛周湿疹患者30例, 总有效率为90.0%。房名东^[48]认为中药熏洗疗法有内、外两大功效, 内则疏通腠理、通经活络、流畅气血, 外则清热解毒消肿、疏风除湿止痒。

临床中多根据肛周湿疹的皮损情况或急性慢性分期进行辨证加减论治。吴光汉^[49]总结其在肛肠科38年临床工作中的经验, 将肛周湿疹按其病程和皮损情况进行分期: 急性期采用自拟马齿苋四子汤, 亚急性期采用木槿斑坐浴方, 慢性期采用自拟四物防风坐浴方, 取得满意疗效。陈海生^[50]利用燥湿止痒洗剂治疗急性慢性肛周湿疹, 对于渗出、红斑、丘疹明显者加黄柏、茵陈, 皮肤皲裂或苔藓样变者加当归、红花、桃仁。魏洪亮等^[51]以中药熏洗治疗肛周湿疹时, 对于瘙痒重者在原方的基础上加用白鲜皮, 取得满意疗效。

3 熏洗疗法的不良反应及注意事项

熏洗疗法最常见的不良反应是熏洗后皮肤红肿加重, 多由熏洗坐浴时间过长导致。随着熏洗时间的延长, 皮肤吸收水分增加, 药液中的水分子渗入组织间隙增多, 可致组织渗透性水肿; 熏洗过程中, 患者肛门口压力增加, 局部静脉压及毛细血管压力增高, 加之熏洗液浸泡可致角质层膨胀及温热作用可致局部血管扩张, 诱发加重局部充血水肿^[7]。笔者总结临床报道, 较多推荐熏洗5-10 min, 可适当延长, 最多不超过15 min。不推荐熏洗时间超过30 min。随着熏洗时间的适当控制, 红肿等不良反应逐渐减轻或消失。有部分患者对中药产生过敏反应, 熏洗后症状不缓解, 反而加重, 予停止熏洗并必要时行抗过敏治疗。其他不良事件如烫伤、年老体虚者易发生久蹲后眩晕甚至跌倒等。查阅的文献中, 中药熏

洗治疗肛周湿疹不良反应少, 至今未见发生严重不良反应的报道, 并且以上不良事件, 均可积极控制后加以避免或减轻。因此, 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的安全性和有效性高, 值得临床推广应用。

进行中药熏洗时注意, 熏洗前应排净大便, 尽量避免坐浴后马上排便的不良刺激。避免月经期间坐浴或采取保护措施, 患有如急性传染病、重症心血管病、妊娠、内痔出血量大者慎用。

4 结论

肛周湿疹是肛肠科常见病、多发病, 治疗较为棘手。肛周湿疹易复发, 需长期反复治疗, 因此药物的安全性、经济性等十分重要。中药熏洗疗法以中医辨证论治为理论基础, 突出个体化原则, 注重局部与整体相结合, 并且具有作用直接, 疗效显著, 不良反应少, 患者易接受、无需住院等优势。

中药熏洗疗法源远流长, 实践证明是行之有效的治疗方法。祖国医学多在于经验层面, 而近年来, 现代医学对中药熏洗疗法进行了较为深入的研究, 通过临床及实验研究初步证实了中药熏洗疗法的安全性及有效性等, 但仍存在一些问题, 如部分临床研究缺乏合理的实验设计和科学的实验对照, 样本量偏小, 无随访或随访时间偏短等。并且未对患者生活质量的情况进行评估。中药熏洗的时间、温度及熏洗液的浓度控制方法等未形成统一的标准, 建议开展筛选最佳中药熏洗时间、熏洗温度及熏洗液浓度等的临床及实验研究, 以明确中药熏洗的时间、温度及浓度的药效关系, 并加强从分子水平阐明其作用机制, 推进中药熏洗疗法的科学性、规范性和可操作性。建议制定熏洗疗法治疗肛周湿疹的诊疗流程, 作为日常临床工作的指导, 并要继续关注患者熏洗的不良反应, 保证熏洗疗法的安全可靠。此外, 经皮给药体系的完善, 透皮吸收理论的发展对中药熏洗疗法的临床及实验研究有很大的指导意义。

总之, 中药熏洗疗法有很好的发展前景, 值得临床推广, 需正确使用才能取得好的疗效。因此, 对中药熏洗疗法的规范化研究, 将是今后肛周湿疹研究的一个重要方向。

5 参考文献

- 1 Kränke B, Trummer M, Brabek E, Komericki P, Turek TD, Aberer W. Etiologic and causative factors in perianal dermatitis: results of a prospective study in

■创新盘点

本文所涉及的内容基本涵盖了中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的现状, 并从熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应等方面做了较为全面的综述, 对临床有一定的指导意义。

■同行评价

本文对对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究进行了较好的综述,具有一定的科学性和可读性。

- 2 126 patients. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118: 90-94 [PMID: 16703252 DOI: 10.1007/s00508-006-0529-x]
- 3 王春霞. 肛周湿疹中医治疗近况. *时珍国药研究* 1998; 9: 277-278
- 4 邓列华, 万建勳, 胡云峰, 赵刚, 陈军生, 罗育武, 孙乐栋. 0.1%他克莫司软膏治疗肛周湿疹的临床疗效观察. *中国医院药学杂志* 2011; 31: 132-134
- 5 周荣珍, 梁鹏, 张磊昌. 中药熏洗坐浴法在肛肠科的运用. *中医学报* 2011; 26: 398-400
- 6 王莉. 中药煎剂熏洗坐浴治疗肛门疾患300例. *中医外治杂志* 2000; 9: 23
- 7 秦佳维, 余苏萍. 肛周湿疹中西医结合治疗近况. *辽宁中医药大学学报* 2012; 14: 205-207
- 8 秦娟, 郭秀君, 杜媛, 赵小寅. 不同干预时机与持续时间的中药熏洗对肛肠疾病术后患者的影响. *解放军护理杂志* 2010; 27: 1845-1851
- 9 刘梅, 刘雪英, 程建峰. 苦参碱的药理研究进展. *中国中药杂志* 2003; 28: 801-804
- 10 王会贤, 喻学忠, 钱玉昆. 氧化苦参碱对淋巴细胞第二信使的影响. *中国免疫学杂志* 1993; 9: 315-317
- 11 秦万章. *现代中医药应用与研究大全(皮肤科)*. 第1版. 上海: 上海中医药大学出版社, 1994: 117-129
- 12 从欢, 李磊. 白鲜皮提取物抗湿疹实验研究. *中国医学创新* 2012; 9: 18-19
- 13 张明发, 沈雅琴. 白鲜皮药理作用的研究进展. *抗感染药学* 2012; 9: 95-99
- 14 卢向红, 徐向东, 付红伟, 陈波, 田景奎, 张琳. 地肤子化学成分的研究. *中国药学杂志* 2012; 47: 338-342
- 15 蒋剑平, 沈小青, 范海珠. 地肤子化学成分及药理活性研究进展. *中华中医药学刊* 2011; 29: 2704-2706
- 16 刘华钢, 申庆荣, 刘丽敏. 中药抗菌研究进展. *时珍国医国药* 2010; 21: 463-464
- 17 黄开冬, 秦琳. 苦参汤坐浴治疗肛周湿疹的临床观察. *四川中医* 2012; 30: 106-107
- 18 蔺茂强, 朱英华, 刘之力, Peter M. Elias. 表皮通透的屏障功能及其调节. *中国皮肤性病学杂志* 2008; 22: 250-252
- 19 Erdal MS, Peköz AY, Aksu B, Araman A. Impacts of chemical enhancers on skin permeation and deposition of terbinafine. *Pharm Dev Technol* 2013 Jul 10. [Epub ahead of print] [PMID: 23841559 DOI: 10.3109/10837450.2013.813538.]
- 20 俞文英, 张亮, 陈国神, 叶金翠. 混合促进剂在经皮给药中的应用研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2013; 18: 103-109
- 21 赵华, 林婕, 何聪芬, 刘光荣, 董银卯. 4种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效评价. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 34-38
- 22 李东晓, 邓文龙. 冰片促透作用研究进展. *中药药理与临床* 2007; 23: 87-89
- 23 陈艳明, 王宁生. 冰片对血脑屏障体外模型细胞间紧密连接和细胞吞饮囊泡的影响. *中国中西医结合杂志* 2004; 24: 632-634
- 24 杨华生, 朱庆文, 梁秉文. 药用辅料在中药经皮给药制剂中的应用. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-5
- 25 Kitahara M, Ishiguro F, Takayama K, Isowa K, Nagai T. Evaluation of skin damage of cyclic monoterpenes, percutaneous absorption enhancers, by using culture human skin cells. *Biol Pharm Bull* 1993; 16: 912-916 [PMID: 8268859]
- 26 祁荣, 贺锐锐, 李博, 梁秉文. 经皮给药系统研究新进展. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-6
- 27 张仲源, 张惠生, 张丽敏. 促进透皮吸收的中药材(三). *中医外治杂志* 2010; 19: 63-64
- 28 董洪涛, 李静. 经络穴位经皮给药系统的机制探讨. *中医研究* 1998; 11: 42-54
- 29 王晖. 经皮给药的药代动力学研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2007; 12: 1216-1220
- 30 张仲源, 张惠生, 张丽敏. 促进透皮吸收的中药作用机制. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-4
- 31 赵富元. 中药外用以法辨治肛肠病经验浅析. *光明中医* 2012; 27: 163-164
- 32 张永刚, 谷云飞. 中药熏洗疗法在肛肠疾病中的应用. *现代中西医结合杂志* 2007; 16: 1676-1677
- 33 李玉平. 中药熏洗疗法在肛肠疾病中的运用. *中医外治杂志* 2009; 18: 62-63
- 34 刘因华, 赵远, 郭世民. 浅谈经皮给药的机制方法和发展前景. *云南中医杂志* 2008; 29: 59-61
- 35 李斌, 汤红. 外用药物透皮吸收研究概况. *中医外治杂志* 1999; 8: 42-43
- 36 Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 1261-1268 [PMID: 18997767 DOI: 10.1038/nbt.1504.]
- 37 俞文英, 张亮, 陈国神, 叶金翠. 混合促进剂在经皮给药中的应用研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2013; 18: 103-109
- 38 Sznitowska M, Janicki S, Williams AC. Intracellular or intercellular localization of the polar pathway of penetration across stratum corneum. *J Pharm Sci* 1998; 87: 1109-1114 [PMID: 9724563 DOI: 10.1021/js980018w]
- 39 鲁应军, 朱涛. 经皮给药系统应用的研究进展. *医学综述* 2012; 18: 1219-1221
- 40 孙美春, 李佩芳, 张群, 朱萍. 痔疮患者术后用中药熏洗伤口的疗效观察与护理. *上海护理* 2006; 6: 48-49
- 41 韩凯, 令狐庆, 于靖亮. 中药灭虫止痒剂改善肛周湿疹瘙痒症状的临床研究. *中医学报* 2012; 27: 1506-1508
- 42 刘彦涛. 五子参矾洗剂熏洗治疗肛周湿疹疗效观察. *中国实用医药* 2012; 7: 144-145
- 43 李胜桥. 熏洗治疗肛门疾病发展近况. *湖北中医杂志* 1999; 21: 240
- 44 吴撼平. 中药熏洗联合手术治疗肛门湿疹的临床效果观察. *中医临床研究* 2011; 3: 55
- 45 王中良. 祛湿止痒汤熏洗治疗肛门湿疹66例. *陕西中医* 2007; 28: 454-455
- 46 邓莉, 陈步强, 马丹, 李林, 赵自星. 加味桃红四物汤熏洗治疗慢性肛门湿疹106例. *四川中医* 2011; 29: 104
- 47 文家勇, 万萍. 金玄痔科熏洗散治疗肛周湿疹37例. *医药导报* 2010; 29: 59
- 48 于晓琳. 中药消风散外洗治疗慢性肛周湿疹的临床疗效观察. *山东中医药大学*, 2004
- 49 房名东. 熏洗疗法的作用机制及功效. *第七届全国外治学学术年会论文集*, 2011: 156-158
- 50 吴光汉. 传统中药熏洗法在肛肠科的运用. *中医外治杂志* 1996; 6: 46
- 51 陈海生. 熏洗疗法在肛肠科的临床应用. *现代中医药* 2010; 30: 24-25
- 魏洪亮, 郭纯艳. 中药熏洗治疗肛周湿疹临床观察. *实用中医药杂志* 2009; 25: 34-35

编辑 田滢 电编 鲁亚静



质子泵抑制剂的应用与发展

周洁浩, 刘冰熔

周洁浩, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086

周洁浩, 主要从事消化系统疾病的内科治疗及内镜下诊疗.

作者贡献分布: 本文综述由周洁浩完成; 刘冰熔负责审校.

通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路248号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科. snowyecho@sina.com

电话: 024-86408688

收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Proton pump inhibitors

Jie-Hao Zhou, Bing-Rong Liu

Jie-Hao Zhou, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 248 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. snowyecho@sina.com

Received: 2013-06-27 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Proton pump inhibitors (PPIs) can bind to the proton pump and inhibit it to secrete hydrogen ions. Since currently used PPIs have a short plasma half-life and can interact with other drugs, there is still an urgent need to develop new and interesting PPIs that can overcome these problems. This review summarizes the latest progress in research of PPIs with regard to the mechanism of action, side effects, and interactions with other drugs and provides an update of the status of acid-suppression therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Proton pump inhibitors; Intragastric pH; Mechanism of action

Zhou JH, Liu BR. Proton pump inhibitors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3083-3088 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3083.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3083>

摘要

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)可与质子泵相互作用, 从而发挥抑酸作用. 但其药物半衰期较短, 并影响其他药物的作用. 目前该类药物的研究还在继续中, 未来将会不断开发新型的. 本综述参考当前有关PPIs药物的最新研究结果的相关文献. 系统分析PPIs药物的作用机制、可能存在的不良反应及对其他药物的影响, 为今后新型药物开发指明方向.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 质子泵抑制剂; 胃内pH值; 作用机制

核心提示: 本文注重从优点及缺点方面全面介绍此类药物, 又分析了几年来关于此药的全面研发及进展, 展望未来发展方向及趋势. 目的是全面优化PPI类药物与临床上的应用, 减少并发症的发生, 提高患者生活质量.

周洁浩, 刘冰熔. 质子泵抑制剂的应用与发展. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3083-3088 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3083.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3083>

0 引言

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs), 是目前临床中应用较为广泛的一种药物. 现已有大量临床数据证明, 对于胃食管反流疾病^[1]、胃肠道溃疡性疾病、上消化道出血^[2]等疾病控制与治疗均有不可替代的作用. 虽然同样作为临床常用药物的H₂受体阻滞剂(histamine 2 receptor antagonists)的发现与应用虽均早于PPI类药物, 但是PPIs直接作用于质子泵, 抑酸作用更为明确与直接, 临床应用更为广泛. 但是大量实验及临床数据表明PPI类药物在疗效上更胜一筹^[3].

1 PPIs的作用机制

胃酸的分泌由质子泵(胃壁上的质子泵, 指的是H⁺-K⁺ ATPase)来完成, 质子泵有活化的与未活

■背景资料

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)于临床上的应用, 已有多年的历史. 目前关于胃食管反流疾病、消化系溃疡及消化系出血等疾病, 在治疗过程中, 此种药物仍是首选. 但是临床上关于此类药物的不足及不良反应也逐渐显现出来. 比如因该类药物半衰期较短, 长期应用此药可能造成营养不良, 而发生贫血及骨质疏松等情况.

■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院; 刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿

如何减少并发症的发生, 解决服药困难, 缩短服药周期就成了国内外学者全心解决的问题及困难. 目前已有多种新型药物被研发出来, 逐渐解决了上述问题.

化的两种, 可以称之为: 活性泵与静息泵: 活性泵位于胃壁细胞的表面, 静息泵则位于胃壁细胞内, 二者可互相转化. 在进食之前, 仅有少量的活性泵可进行胃酸分泌; 进食后, 迷走神经释放的乙酰胆碱, 胃黏膜G细胞释放的胃泌素以及肥大细胞释放的组胺均可作用于胃壁细胞的相应受体上, 引起质子泵的由静息泵转为活性泵的转化, 并开始释放胃酸^[4].

大量研究发现, H^+-K^+ ATPase的抑制剂需要必须具有以下几个结构式: 吡啶环、SO基以及苯并咪唑环^[5]. 目前市面上PPIs正是苯并咪唑的衍生物. 他们可以不可逆地与质子泵结合(雷贝拉唑除外), 从而抑制胃酸分泌. PPIs为弱碱性的, 在较低pH时可以被质子化, 故可以聚集在胃壁细胞小管腔中的强酸环境中, 并转换为次磺酰胺, 此时的PPIs才是有活性的^[6]. 活化了的PPIs可以与 H^+-K^+ ATPase上的半胱氨酸的残端结合, 形成一个二硫键, 以达到抑制质子泵的效果. 从以上介绍可以看出, PPIs只可以与活化了的质子泵相结合. 由于PPIs药物的半衰期较短(奥美拉唑半衰期为1 h, 其余均在1-2 h), 为了在达到最大血药浓度的同时, 也正处于质子泵活化数量最大, 故建议患者在进食前30-60 min应用此类药物^[7].

2 PPIs的代谢途径

细胞色素P450(Cytochrome P450 proteins, CYP)是一类存在于人体肝脏及肠道的单加氧酶, 多用于代谢药物等其他外源性物质, 使其变为亲水性, 故更易排出体外. CYP450分为多个基因家族和亚家族, 包括CYP3A4、CYP3A5、CYP2D6、CYP2C9、CYP2C19等. 其中与PPIs代谢有关的是CYP3A4与CYP2C19, 其中以后者为主^[8]. 而CYP2C19基因的多态性又较为明显, 可以分为弱代谢型及强代谢型, 这种基因上的微小突变即可改变PPIs的药代动力学特点, 故而影响药效. 在一次有关CYP2C19的基因多态性的研究中, 发现口服PPIs后, 与弱代谢型相比, 强代谢型的胃内pH值要明显降低. 同时不同药物对CYP2C19基因的多样性的敏感度也不同: 奥美拉唑的抑酸效应影响, 雷贝拉唑和埃索美拉唑的抑酸效应则受基因多态性影响极小^[9]. 总之, 了解PPIs的代谢特点, 不仅对用药个性化提供了指导, 更有意义的是可以避免对与PPIs具有相同代谢途径的各类药物药效的影响.

3 目前PPIs应用中可能存在的问题

关于临床应用此类药物的安全性及潜在的不良反应逐渐被重视. 经过大量实验及基础研究, 我们发现PPIs存在着如下待解决的问题.

3.1 增加感染的可能 胃酸一项主要的功能就是可以杀死细菌中的潜在病原体, 特别是对沙门氏菌属等, 更是一道重要的抗感染防线. 当胃酸减少时, 当然就会削弱这种杀菌功能, 增加患有肠道感染的可能, 患者可能出现腹泻腹胀等相关症状. 有大量临床数据表明, 艰难梭菌的感染可能与PPIs等应用有关. 艰难梭菌是一种存在于胃肠道中的共生体, 正常时不会引起疾病, 但在宿主肠道内的微生物环境因疾病或者抗生素等发生改变时, 就可能发生艰难梭菌相关性腹泻(clostridium difficile-associated diarrhea, CDAD)^[10]. Kwok等^[11]曾对313000例患者进行流行病学调查, 发现应用PPI可使患有CDAD的概率增加1.74($P<0.001$). 对于胃食管反流疾病的患者而言, 往往需要长期的口服PPI类药物, 特别是儿童、老年人, 现发现这类患者患有下呼吸道感染的风 险更大^[12]. 在近年的研究及调查中发现应用PPIs类药物, 即便是常规计量短期应用也会增加肺炎发生的危险^[13]. 但其发生的机制尚未明确, 还有待研究.

3.2 营养不良 食物进入胃内后, 先与胃酸发生反应, 发生质子化或发生解离, 进入小肠后, 营养物质被吸收入血. 应用了PPIs后, 胃内pH值升高, 影响了营养物质的吸收, 其中包括: 维生素B₁₂、铁^[14]、镁^[15]等. 大量临床数据表明, 长期应用质子泵抑制剂后, 会增加患者患有缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血、低镁血症等疾病的可能.

3.3 胃壁黏膜的改变 目前临床应用PPIs的持续时间为4-8 wk. 其中一个原因就是为了避免长期应用此类药物后可能导致的胃壁黏膜的肥厚性增生甚至恶变^[16]. 日本学者Hagiwara等^[17]做过这样的实验, 他们给蒙古沙鼠口服奥美拉唑(100 mg/kg)长达6 mo. 6 mo之后进行胃壁的组织学检查, 后发现口服奥美拉唑同时感染幽门螺杆菌的实验鼠胃壁腺体的萎缩程度最为严重, 且这些鼠中有60%发现腺癌, 而只是感染了幽门螺旋杆菌未口服奥美拉唑的实验对象里只有7%发现有腺癌. 另一项研究中发现长期应用抑酸药物导致的高胃泌素血症可刺激肠嗜铬细胞增殖, 甚至发生神经内分泌肿瘤. 此种类癌5年生存率较高, 且个别患者出现了停药后肿瘤减小及消

失的情况^[18]。

3.4 与其他疾病的关系

3.4.1 泮托拉唑钠与急性肾间质性肾炎: 2004年由泮托拉唑引起的急性肾间质性肾炎第一次被报道出来^[19]。从那时开始至2012年经WHO(World Health Organization)统计共发生了87例由泮托拉唑引起的急性肾衰^[20]。Jacobs-Kosmin等^[21]做了与此相关的回顾性研究, 发现在过去的14年里在一家机构中共发生过90例, 说明这种由泮托拉唑引起的并发症只是未能引起注意, 但并非少见。

3.4.2 骨代谢与骨折: 实验证明即使是短期应用PPI类药物即可影响骨代谢, 造成低钙血症, 间接致使甲状旁腺激素分泌增加, 进而发生溶骨^[22]。长期应用的结果就是可能造成骨折发病率的增加, 且多发生于髌骨及髌骨^[23]。当然发生骨折的可能与年龄, 用药剂量等都具相关性, 多数实验的结果也不尽相同。但经多中心综合分析, 可以断定相关性已明确^[24]。但不得不提及的是, 同为酸抑制药物, 但是应用H2RB并未增加骨折的危险性^[25]。

3.5 与其他药物的相互作用 关于PPIs与药物的相互作用其机制主要有如下几种可能: (1)有些药物的溶解度受到胃内PH值得影响; (2)有机分子与多价金属离子的螯合作用; (3)PPIs可能会影响胃肠道的动力; (4)抑酸药物的应用可能会是尿液碱化, 故而影响药物经尿排出^[26]。综合以上几点我们可以看出, PPIs可与多种药物能否正常发挥功能及正常代谢有关。其中包括多种抗生素、抗真菌药物、 β 受体阻断剂等。在服用PPIs药物时可降低胃内的酸性, 使地高辛快速穿过胃壁细胞, 而未进行活化, 影响其疗效, 故会发生血药浓度过高^[27]。值得一提的是氯吡格雷(clopidogrel), 该药系一种血小板聚集抑制剂, 近年来常与阿司匹林合用, 用于治疗冠心病及急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)^[28]。但大量临床试验证明, 应用以上两种药物作为抗血小板治疗时, 可能造成消化道溃疡甚至消化系出血等症状, 为了改善症状, 临床上常与PPIs合用^[29,30]。但近年研究发现PPIs会影响氯吡格雷发挥疗效。正如上文所提到的, 参与PPIs代谢的是CYP3A4与CYP2C19两种酶, 但CYP2C19又正是将氯吡格雷转化为生物活性的主要代谢酶, 这就解释了为什么PPIs会影响氯吡格雷的疗效^[31-33]。临床工作中也应注意避免上述药物相互作用的问题。

4 药物改进与研发

为了解决药物仍存在的半衰期短等不足之处, 有关PPIs药物设计的改进方案一直都没停止过。共有以下几种解决方案: (1)同分异构体: 以奥美拉唑为例, 目前市面上销售的奥美拉唑多为S-奥美拉唑及L-奥美拉唑的一种外消旋混合物, 换言之即两种异构体为等摩尔数混合物。而埃索美拉唑也就是S-奥美拉唑的药物^[34]。虽然两种同分异构体在抑酸机制及效用并无明显异常, 但是已有大量临床数据表明对比应用以上两种药物发现, 埃索美拉唑的抑酸效果要强于奥美拉唑^[35]。其可能的原因是: S-奥美拉唑于人体内更为稳定, 这样就延长了有效血药浓度的持续时间, 延长了胃酸抑制的时间。从奥美拉唑到埃索美拉唑的改变, 正是说明了应用同分异构体可以解决抑酸药物作用时间较短的不足^[36]; (2)新型质子泵抑制剂: 近几年已研究出几种新型PPIs药物, 其中部分已经进入市场或临床试验阶段。艾普拉唑(Elaprazole)是目前已在韩国上市, 也很快将进入美国的临床应用试验。这种药物同样也是苯并咪唑的化合物, 与 H^+-K^+ ATPase可以不可逆的结合。在一些临床实验中发现较少计量的艾普拉唑(5-10 mg)与奥美拉唑相比(20 mg)可是溃疡面积变小且加快溃疡愈合, 相关症状也缓解明显且迅速^[37]。且这种药物的代谢与CYP2C19基因的多样性关系不密切^[38]。但是该药的半衰期可达3.6 h, 正是这种药代动力学的改变, 致使其药效学的改进, 在活体实验中证明其抑酸的能力是奥美拉唑的2-3倍^[39]。另一种新型的PPIs-泰普拉唑(Tenatoprazole), 与其他药物不同, 他通过一个亚磺酰基-甲基连与吡啶环相连形成一个咪唑并吡啶环。其在血浆内半衰期可达8-10 h, 是目前市面上PPIs药物的5-7倍。在一项Hunt等^[40]进行的比较泰普拉唑及埃索美拉唑的抑酸作用的实验中, 得出以下结论: 在应用药物5 d后, 监测实验对象24 h胃酸浓度, 发现平均pH值泰普拉唑明显高于埃索美拉唑, 且在夜间发生酸突破方面也明显优于埃索美拉唑。更值得一提的是, 胃酸pH>4的时间可接近16 h。目前该药已在日本上市, 这种药物的出现预示着一一种新型的藥物結構也可以抑制胃酸分泌^[41]。由Hunt等^[42]联合研发的AGN201904-Z是一种具有酸稳定性的奥美拉唑钠盐, 在血液中水解成奥美拉唑, 为了延长血浆存留时间, 这种药物被设计成持续计量吸收, 也就延长了质子泵在药物中暴露的时间。健康人应用该药物5 d后, 进行流

■ 相关报道

此类药物于临床上已应用多年, 近年来的研究及报道大多与其不良反应及新药的研发有关。本文总结了50余篇相关报道, 全面分析了上述问题。

■创新盘点

本文主要总结的是近年来关于其不良反应及新药研究的报道,分析如何能达到最佳的治疗效果,并减少不良反应的发生,对于PPI类药物在临床上的应用起到指导作用。

式胃内pH值检测,我们发现夜间pH>2的时长超过5h,这种药物对于那些需要夜间酸抑制的患者来说尤为适合;(3)钾离子竞争性酸抑制剂(potassium competitive acid B blocker P-CAB):最初的P-ACB药物按化学结构分为咪唑并吡啶类、咪唑并萘啶类、嘧啶类和喹啉类,以及近期出现的吡啶类。P-ACB与H⁺-K⁺ ATPase的结合方式与PPIs不同:此类药物与K⁺竞争H⁺-K⁺ ATPase上的K⁺结合位点,以阻止K⁺与H⁺进行交换,从而达到抑酸的效果。不仅如此,此类药物在血清内不必进行活化,且首次给药即可达到最大药效。关于此类药物的研究已经经历了三十余年,瑞伐拉赞等药物已经经历了三期试验,即将应用于临床中以治疗胃十二指肠溃疡、胃炎及反流性疾病。但是P-CAB的长期临床效果及不良反应尚未有定论^[43-46];(4)PPIs药物的新设计:为了延长PPIs的抑酸作用时间,一种方法就是可以应用改进了的药物溶衣,可以使药物缓慢释放,其中包括在药物外层包裹胶体壳,肠溶衣或者应用多层的包裹,使得药物间断地释放出来^[47]。AGI-010就是一种应用了延迟释放设计的奥美拉唑的。这种药物可以于晚饭时应用,并保留在胃里长达4-6 h,之后即可释放药物,使其于凌晨2-3时开始起效^[48]。另一种以兰索拉唑二次释放的新药来说,将一定比例的药物颗粒包裹在一种在较高的pH值才能被溶解掉的胶囊内,而且胶囊外部仍有一部分的药物。这样就可使药物释放可以达到两次峰值,延长了质子泵暴露于PPIs的时间,也就加强了其抑酸效果^[49]。甚至有人想出在药物核心外面包裹上一层碳酸氢钠的缓冲剂,既可以快速高效地降低胃内pH值,又可以利用其内PPIs继续发挥抑酸的作用^[50]。对于上消化道出血等疾病而言,快速地升高胃内pH值,即有助于止血,又可保证血液凝块的稳定性,故而缓冲剂的应用也是有重要意义的^[51]。

5 结论

目前的抑酸治疗仍然存在着很多不足之处,然而研究还在继续,不久的将来肯定还会有更多的新型药物出现,以继续应用于治疗胃酸相关疾病以及胃食管反流病、消化系出血^[52]等疾病中。但是,如何才能更好地克服现有问题,研制出更为有效安全的PPIs制剂,我们还有很长的一段路要走。

6 参考文献

- Sifrim D, Zerbib F. Diagnosis and management of

- patients with reflux symptoms refractory to proton pump inhibitors. *Gut* 2012; 61: 1340-1354 [PMID: 22684483 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301897]
- Lau JY, Barkun A, Fan DM, Kuipers EJ, Yang YS, Chan FK. Challenges in the management of acute peptic ulcer bleeding. *Lancet* 2013; 381: 2033-2043 [PMID: 23746903 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60596-6]
- Alhazzani W, Alenezi F, Jaeschke RZ, Moayyedi P, Cook DJ. Proton pump inhibitors versus histamine 2 receptor antagonists for stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2013; 41: 693-705 [PMID: 23318494 DOI: 10.1097/ccm.0b013e3182758734]
- Hershcovici T, Fass R. Pharmacological management of GERD: where does it stand now? *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32: 258-264 [PMID: 21429600 DOI: 10.1016/j.tips.2011.02.007]
- Sachs G, Shin JM, Briving C, Wallmark B, Hersey S. The pharmacology of the gastric acid pump: the H⁺,K⁺ ATPase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 277-305 [PMID: 7598495]
- Shin JM, Kim N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 25-35 [PMID: 23350044 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.25]
- Hatlebakk JG, Katz PO, Camacho-Lobato L, Castell DO. Proton pump inhibitors: better acid suppression when taken before a meal than without a meal. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1267-1272 [PMID: 11012470]
- Taubert D, Bouman HJ, van Werkum JW. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 2249-2250; author reply 2251 [PMID: 19458375 DOI: 10.1056/nejmc090391]
- Chunyan N, Jinyan L, Nila M, Xueqin W. Relationship between the acid-suppression efficacy of proton pump inhibitors and the CYP2C19 genetic polymorphism in patients with peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15: 2151-2155 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2007.19.015]
- Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. Clostridium difficile-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1001-1010 [PMID: 22710578 DOI: 10.1038/ajg.2012.179]
- Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI, Singh S, Cavallazzi R, Loke YK. Risk of Clostridium difficile infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1011-1019 [PMID: 222525304 DOI: 10.1038/ajg.2012.108]
- Lightdale JR, Gremse DA. Gastroesophageal reflux: management guidance for the pediatrician. *Pediatrics* 2013; 131: e1684-e1695 [PMID: 23629618 DOI: 10.1542/peds.2013-0421]
- Hermos JA, Young MM, Fonda JR, Gagnon DR, Fiore LD, Lawler EV. Risk of community-acquired pneumonia in veteran patients to whom proton pump inhibitors were dispensed. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 33-42 [PMID: 22100573 DOI: 10.1093/cid/cir767]
- Reimer C, Søndergaard B, Hilsted L, Bytzer P. Proton-pump inhibitor therapy induces acid-related symptoms in healthy volunteers after withdrawal of therapy. *Gastroenterology* 2009; 137: 80-87, 87.e1

- [PMID: 19362552 DOI: 10.105/jgastro.2009.03.098]
- 15 Broeren MA, Geerdink EA, Vader HL, van den Wall Bake AW. Hypomagnesemia induced by several proton-pump inhibitors. *Ann Intern Med* 2009; 151: 755-756 [PMID: 19920278 DOI: 10.1059/1003-4819-151-10-200911170-00016]
 - 16 Jianu CS, Fossmark R, Viset T, Qvigstad G, Sørdal O, Mårvik R, Waldum HL. Gastric carcinoids after long-term use of a proton pump inhibitor. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 644-649 [PMID: 22861200 DOI: 10.1111/apt.12012]
 - 17 Hagiwara T, Mukaisho K, Nakayama T, Sugihara H, Hattori T. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. *Gut* 2011; 60: 624-630 [PMID: 21097844 DOI: 10.1136/gut.2010.207662]
 - 18 Hassall E, Owen D, Kerr W, Sturby T, Richardson P, El-Serag H. Gastric histology in children treated with proton pump inhibitors long term, with emphasis on enterochromaffin cell-like hyperplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 829-836 [PMID: 21320136 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04592.x]
 - 19 Ra A, Tobe SW. Acute interstitial nephritis due to pantoprazole. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 41-45 [PMID: 14742791]
 - 20 Klassen S, Krepinsky JC, Prebtani AP. Pantoprazole-induced acute interstitial nephritis. *CMAJ* 2013; 185: 56-59 [PMID: 23109611 DOI: 10.1503/cmaj.120954]
 - 21 Jacobs-Kosmin D, Derk CT, Sandorfi N. Pantoprazole and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Rheumatol* 2006; 33: 629-632 [PMID: 16482642]
 - 22 Zhou J, Zhang M. Association of proton pump inhibitor use with altered calcium metabolism and bone fractures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17: 2922-2926
 - 23 Roblin X, Phelip JM. Biological plausibility between proton pump inhibitory therapy and hip fracture: hyperhomocysteinemia can be the link. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1052 [PMID: 19240711 DOI: 10.1038/ajg.2008.175]
 - 24 Ngamruengphong S, Leontiadis GI, Radhi S, Dentino A, Nugent K. Proton pump inhibitors and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1209-1218; quiz 1219 [PMID: 21483462 DOI: 10.1038/ajg.2011.113]
 - 25 Eom CS, Park SM, Myung SK, Yun JM, Ahn JS. Use of acid-suppressive drugs and risk of fracture: a meta-analysis of observational studies. *Ann Fam Med* 2011; 9: 257-267 [PMID: 21555754 DOI: 10.1370/afm.1243]
 - 26 Budha NR, Frymoyer A, Smelick GS, Jin JY, Yago MR, Dresser MJ, Holden SN, Benet LZ, Ware JA. Drug absorption interactions between oral targeted anticancer agents and PPIs: is pH-dependent solubility the Achilles heel of targeted therapy? *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92: 203-213 [PMID: 22739140 DOI: 10.1038/clpt.2012.13]
 - 27 Gustafsson E, Jacobsson G, Nilsson P, Enroth H, Beronius MK, Andersson R, Arvidson S. Invasive *Staphylococcus aureus* strains are highly variable in PFGE patterns, agr group and exoprotein production. *Scand J Infect Dis* 2009; 41: 577-583 [PMID: 19513937 DOI: 19007/s10620-009-0818]
 - 28 Pinault D. Antidromic firing occurs spontaneously on thalamic relay neurons: triggering of ectopic action potentials by somatic intrinsic burst discharges. *Neuroscience* 1990; 34: 281-292 [PMID: 2333143 DOI: 10.1016/j.jacc.2012.11.040]
 - 29 Arbel Y, Birati EY, Finkelstein A, Halkin A, Kletzel H, Abramowitz Y, Berliner S, Deutsch V, Herz I, Keren G, Banai S. Platelet inhibitory effect of clopidogrel in patients treated with omeprazole, pantoprazole, and famotidine: a prospective, randomized, crossover study. *Clin Cardiol* 2013; 36: 342-346 [PMID: 23630016 DOI: 10.1002/clc.22117]
 - 30 Goodman SG, Clare R, Pieper KS, Nicolau JC, Storey RF, Cantor WJ, Mahaffey KW, Angiolillo DJ, Husted S, Cannon CP, James SK, Kilhamn J, Steg PG, Harrington RA, Wallentin L. Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial. *Circulation* 2012; 125: 978-986 [PMID: 22261200 DOI: 10.1161/circulationAHA.111.03292]
 - 31 Sibbing D, Morath T, Stegherr J, Braun S, Vogt W, Hadamitzky M, Schömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Impact of proton pump inhibitors on the antiplatelet effects of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2009; 101: 714-719 [PMID: 19350116]
 - 32 US Food and Drug Administration. FDA Drug Safety Communication: Reduced effectiveness of Plavix (clopidogrel) in patients who are poor metabolizers of the drug. Postmarket Drug Safety Information for Patients and Accessed February 10, 2012
 - 33 Chen J, Yuan YC, Leontiadis GI, Howden CW. Recent safety concerns with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 93-114 [PMID: 22227731 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182333820]
 - 34 Scarpignato C, Pelosini I, Di Mario F. Acid suppression therapy: where do we go from here? *Dig Dis* 2006; 24: 11-46 [PMID: 16699262 DOI: 10.1159/000091298]
 - 35 Zhang HM, Miao YL. Advances in the clinical applications of esomeprazole. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17: 2064-2069
 - 36 Scott LJ, Dunn CJ, Mallarkey G, Sharpe M. Esomeprazole: a review of its use in the management of acid-related disorders in the US. *Drugs* 2002; 62: 1091-1118 [PMID: 11985491]
 - 37 Zhou G, Tan ZR, Zhang W, Ou-Yang DS, Chen Y, Guo D, Liu YZ, Fan L, Deng HW. An improved LC-MS/MS method for quantitative determination of ilaprazole and its metabolites in human plasma and its application to a pharmacokinetic study. *Acta Pharmacol Sin* 2009; 30: 1330-1336 [PMID: 19701234 DOI: 10.1038/aps.2009.120]
 - 38 Cho H, Choi MK, Cho DY, Yeo CW, Jeong HE, Shon JH, Lee JY, Shin JS, Cho M, Kim DY, Shin JG. Effect of CYP2C19 genetic polymorphism on pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new proton pump inhibitor, ilaprazole. *J Clin Pharmacol* 2012; 52: 976-984 [PMID: 21593280 DOI: 10.1177/0091270011408611]
 - 39 Periclou AP, Goldwater R, Lee SM, Park DW, Kim DY, Cho KD, Boileau F, Jung WT. A comparative pharmacodynamic study of IY-81149 versus omeprazole in patients with gastroesophageal reflux disease. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 304-311 [PMID: 11014412]
 - 40 Hunt RH, Armstrong D, Yaghoobi M, James C. The pharmacodynamics and pharmacokinetics of S-te-

■应用要点

本文旨在介绍此类药物在临床应用中可能出现的问题, 分析各种不良反应发生的原因, 总结近年来新药的开发及应用, 指导临床上此类药物的应用方法. 对于不同疾病的临床治疗方案有指导作用.

■同行评价

本文较为全面的综述PPIs的作用机制和可能的相关影响所导致的不良反应。不失为在目前PPIs广泛应用的反思,且提出自己的看法和展望。文章参考文献较为全面,观点准确,引论合理适当。对临床用药具有一定指导意义。

- 41 natoprazole-Na 30 mg, 60 mg and 90 mg vs. esomeprazole 40 mg in healthy male subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 648-657 [PMID: 20015104 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04219.x]
- 42 Hunt RH, Armstrong D, James C, Chowdhury SK, Yuan Y, Fiorentini P, Taccon A, Cohen P. Effect on intragastric pH of a PPI with a prolonged plasma half-life: comparison between tenatoprazole and esomeprazole on the duration of acid suppression in healthy male volunteers. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1949-1956 [PMID: 16128938]
- 43 Andersson K, Carlsson E. Potassium-competitive acid blockade: a new therapeutic strategy in acid-related diseases. *Pharmacol Ther* 2005; 108: 294-307 [PMID: 16000224]
- 44 Sachs G, Shin JM, Hunt R. Novel approaches to inhibition of gastric acid secretion. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 437-447 [PMID: 20924727 DOI: 10.1007/s11894-010-0149-5]
- 45 Kennedy BF, Loitsch S, McLaughlin RA, Scolaro L, Rigby P, Sampson DD. Fibrin phantom for use in optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2010; 15: 030507 [PMID: 20614992 DOI: 10.1124/jpet.110.170274]
- 46 Matsukawa J, Hori Y, Nishida H, Kajino M, Inatomi N. A comparative study on the modes of action of TAK-438, a novel potassium-competitive acid blocker, and lansoprazole in primary cultured rabbit gastric glands. *Biochem Pharmacol* 2011; 81: 1145-1151 [PMID: 21371447 DOI: 10.1016/j.bcp.2011.02.009]
- 47 Peura DA, Metz DC, Dabholkar AH, Paris MM, Yu P, Atkinson SN. Safety profile of dexlansoprazole MR, a proton pump inhibitor with a novel dual delayed release formulation: global clinical trial experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 1010-1021 [PMID: 19735233 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04137.x]
- 48 AGI Therapeutics: Product AG-010. Available from: URL: <http://www.agitherapeutics.com/agi010.html>
- 49 Vakily M, Lee RD, Wu J, Gunawardhana L, Mulford D. Drug interaction studies with dexlansoprazole modified release (TAK-390MR), a proton pump inhibitor with a dual delayed-release formulation: results of four randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled, single-centre studies. *Clin Drug Investig* 2009; 29: 35-50 [PMID: 19067473 DOI: 10.2165/0044011-200929010-00004.]
- 50 Banerjee R, Reddy DN, Guda NM, Kalpala R, Mahurkar S, Darisetty S, Rao GV. Oral buffered esomeprazole is superior to i.v. pantoprazole for rapid rise of intragastric pH: a wireless pH metry analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 43-47 [PMID: 19874444 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05994.x]
- 51 Ozkan S, Durukan P, Senol V, Vardar A, Torun E, Ikizceli I. Upper gastrointestinal system hemorrhage in the emergency department. *Bratisl Lek Listy* 2011; 112: 706-710 [PMID: 22372337]
- 52 Lin KJ, Hernández-Díaz S, García Rodríguez LA. Acid suppressants reduce risk of gastrointestinal bleeding in patients on antithrombotic or anti-inflammatory therapy. *Gastroenterology* 2011; 141: 71-79 [PMID: 21458456]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 郭沛然, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000

张艺凡, 河北省石家庄市中心医院中西医结合内科 河北省石家庄市 050000

朱雅娜, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由孙玉凤、朱雅娜、何莉莉、任荣及张玉设计; 研究过程、资料查找及数据统计由朱雅娜、何莉莉、任荣、张玉、王飞、李风华、张艺凡及郭沛然共同完成; 本文写作由朱雅娜完成; 孙玉凤审核。

通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

sunyf789@yahoo.com.cn

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-07-08 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats

Ya-Na Zhu, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Feng-Hua Li, Yi-Fan Zhang, Pei-Ran Guo

Ya-Na Zhu, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Feng-Hua Li, Pei-Ran Guo, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Yi-Fan Zhang, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the Central Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyf789@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-08 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on the expression

of suppressors of cytokine signaling protein-3 (SOCS-3) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) in diabetic fatty liver in rats and to explore potential mechanisms involved.

METHODS: Fifty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups: a normal group, a model group, a promoting blood circulation group (*salvia miltiorrhiza*, *rhizoma ligustici*, *wallichii*), a removing blood stasis group (*leech*, *lumbricus*), and a combination group (*salvia miltiorrhiza*, *rhizoma ligustici*, *wallichii*, *leech*, *lumbricus*). Diabetes was induced with streptozocin (50 mg/kg *i.p.*) in all the groups except for the normal group. The three treatment groups were intragastrically treated with Chinese traditional medicine which can promote blood circulate and/or remove stasis once a day for 12 wk. Triglyceride (TG) and cholesterol (TC) were measured using biochemical methods. The expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was determined by RT-PCR.

RESULTS: Compared to the normal group, the levels of TG and TC were significantly increased in the model group (6.80 mmol/L \pm 0.19 mmol/L, 5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 5.01 mmol/L \pm 0.22 mmol/L *vs* 3.55 mmol/L \pm 0.28 mmol/L, all *P* < 0.05; 2.26 mmol/L \pm 0.27 mmol/L, 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L *vs* 1.35 mmol/L \pm 0.16 mmol/L, all *P* < 0.05); however, the levels of TG and TC were significantly lower in each drug intervention group than in the model group (5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 5.01 mmol/L \pm 0.22 mmol/L *vs* 6.80 mmol/L \pm 0.19 mmol/L, all *P* < 0.05; 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L *vs* 2.21 mmol/L \pm 0.21 mmol/L, all *P* < 0.05). The levels of TG and TC were significantly higher in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group (5.01 mmol/L \pm

■背景资料

糖尿病脂肪肝为糖尿病患者的常见并发症, 其缘于糖尿病脂代谢障碍, 造成脂肪在肝脏的过多沉积。随着生活水平的提高和饮食结构的改变, 糖尿病脂肪肝患者逐年增加, 如果得不到及时治疗, 很可能进一步恶化, 发展为肝硬化, 甚至肝癌。活血化瘀通络中药广泛应用于临床糖尿病脂肪肝患者, 并且取得一定疗效, 但有关其作用机制, 国内外未见相关报道。

■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

■研究前沿

近年来研究较多的肝细胞材料为猪肝细胞和肿瘤源性肝细胞株(C3A、HepG2等),但动物肝细胞存在发生免疫反应及传播动物源性病毒的危险,肿瘤源性肝细胞株分化程度低、生物学功能低下且在临床应用中存在细胞逃逸进入患者体内引起肿瘤的危险,限制了临床的广泛应用。

0.22 mmol/L vs 5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, both $P < 0.05$; 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L vs 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, both $P < 0.05$). There was no significant change in the levels of TG and TC between the promoting blood circulation group and removing blood stasis group. Compared to the model group, liver steatosis was significantly reduced in each drug intervention group; however, liver steatosis was significantly more serious in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group. Compared to the normal group, the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly increased in the model group (0.885 ± 0.227 , 0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.189 ± 0.002 , all $P < 0.05$; 0.861 ± 0.020 , 0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.176 ± 0.001 , all $P < 0.05$). However, the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly lower in each drug intervention group than in the model group (0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.885 ± 0.227 , both $P < 0.05$; 0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.861 ± 0.020 , both $P < 0.05$). The expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly higher in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group (0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 vs 0.382 ± 0.014 , both $P < 0.05$; 0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 vs 0.475 ± 0.012 , both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Both combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine can alleviate fatty liver in rats possibly by decreasing the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs. Combined prescription is better than separate prescription in alleviating fatty liver.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diabetic fatty liver; Promoting blood circulation and removing blood stasis Chinese medicine; SOCS-3; SREBP-1c

Zhu YN, Sun YF, He LL, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li FH, Zhang YF, Guo PR. Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3089-3096 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3089.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3089>

摘要

目的: 观察活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病大鼠脂肪肝及细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)mRNA和类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)mRNA表达的影响, 探讨其抗糖尿病性脂肪肝的作用及可能机制。

方法: 将50只健康♂SD大鼠随机分为正常组、模型组、中药1组(活血组, 丹参、川芎)、中药2组(通络组, 水蛭、地龙)和中药3组(合方组, 水蛭、地龙、丹参、川芎), 除正常组外, 参照相关文献复制糖尿病性脂肪肝大鼠模型, 造模成功后, 正常组和模型组予生理盐水灌胃, 中药1、2、3组分别予活血中药(丹参、川芎), 通络中药(水蛭、地龙), 合方中药(水蛭、地龙、丹参、川芎)灌胃, 1次/d; 12 wk后处死大鼠, 生化法测量甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC), RT-PCR法检测肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达。

结果: 与正常组相比, 模型组及各药物干预组大鼠血清TC、TG水平明显升高($6.80 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$, $5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $3.55 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($2.26 \text{ mmol/L} \pm 0.27 \text{ mmol/L}$, $1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $1.35 \text{ mmol/L} \pm 0.16 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血清TC、TG水平有明显降低($5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $6.80 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $2.21 \text{ mmol/L} \pm 0.21 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组TC、TG水平比中药1、2组低($5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 中药2组的TC、TG水平比中药1组低, 但没有统计学意义。各药物干预组大鼠肝细胞内脂肪滴减少, 脂肪囊肿消失, 转为轻中度脂肪变性, 脂肪变较模型组明显减轻; 合方组较拆方组脂肪变减轻; 与正常组相比, 模型组和各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均增强(0.885

± 0.227 , 0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.189 ± 0.002 , $P < 0.05$)、(0.861 ± 0.020 , 0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.176 ± 0.001 , $P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均减弱(0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.885 ± 0.227 , $P < 0.05$)、(0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.861 ± 0.020 , $P < 0.05$); 与中药3组相比, 中药1、2组 SOCS-3和SREBP-1c表达均升高(0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 vs 0.382 ± 0.014 , $P < 0.05$)、(0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 vs 0.475 ± 0.012 , $P < 0.05$); 相关分析显示, SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA呈正相关($r = 0.978$, $P < 0.05$)。

结论: 活血化瘀通络中药合方及拆方可以明显改善糖尿病脂肪肝, 其作用机制可能与降低SOCS-3和SREBP-1c的表达有关; 合方组明显优于拆方组。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 糖尿病性脂肪肝; 活血化瘀通络中药; 细胞因子信号转导抑制物-3; 类固醇条件元件结合蛋白-1c

核心提示: 活血化瘀通络中药能显著改善脂肪变性, 降低细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)mRNA和类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)mRNA的表达, 提示活血化瘀通络中药可明显改善改善糖尿病性脂肪肝大鼠的脂肪变性, 其机制可能与其下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA表达有关, 且活血中药和通络中药具有协同作用。

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然. 活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3089-3096 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3089.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3089>

0 引言

糖尿病性脂肪肝是指由于胰岛素分泌不足或相对缺乏引发的肝脏的脂代谢紊乱。正常成人在一般膳食条件下, 肝脏脂肪含量约占肝脏湿重的3%-5%, 糖尿病时由于脂肪代谢障碍, 使肝脏脂肪含量增加, 当肝脏脂肪含量超过肝脏重量10%时, 谓之糖尿病性脂肪肝^[1]。糖尿病脂肪肝包含于非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD), 其发病机制与NAFLD相

同。NAFLD是指由酒精和其他明确的肝损伤因素之外的原因所致, 以肝细胞脂肪变性和脂肪沉积为特征的临床病理综合征, 按病理学分类可分为单纯性非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎和非酒精性脂肪性肝硬化^[2]。其常与肥胖、2型糖尿病、血脂紊乱同时存在, 被视为代谢综合征的肝脏表现^[3]。NAFLD发生与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)密切相关, 改善IR对NAFLD有一定的治疗作用。近年来研究发现细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)在IR和NAFLD的发生发展中起到非常重要的作用^[4]。SOCS-3一方面通过抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 导致NAFLD; 另一方面通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)促进脂肪酸合成, 导致NAFLD。由于生活水平的提高和不合理饮食, 糖尿病性脂肪肝患者逐年增加, 活血化瘀通络中药临床广泛应用于糖尿病性脂肪肝患者, 并取得了一定疗效。本实验建立糖尿病脂肪肝大鼠模型, 应用活血化瘀通络中药进行干预, 观察活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病性脂肪肝的作用及对SOCS-3和SREBP-1c的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄清洁级♂SD大鼠50只, 体质量为200-210 g, 由河北医科大学动物实验室提供, 许可证编号: 1112061, 分笼饲养, 每笼4只, 室温19℃-24℃, 湿度60%-70%, 自由饮水饮食, 明暗周期12 h/12 h。高热量饲料由基础饲料、炼猪油、胆固醇粉、胆酸钠粉按87.5%、10.0%、2.0%、0.5%的比例混合而成^[5]。适应性喂养1 wk后, 按体质量随机分为6组, 每组10只: 正常组、模型组、中药1组活血组、中药2组(通络组)、中药3组(合方组)。引物序列由NCBI-Nucleotide基因库检索, Primer5.0软件设计, 华瑞创新生物科技开发中心合成。SOCS-3 mRNA引物: 上游引物5'-GCT CCA AGA GCG AGT ACC AG-3'; 下游引物: 5'-AGT ACA CAG TCA AAG CGG GG-3', 扩增片段为286 bp。SREBP-1c mRNA引物: 上游引物: 5'-GCC ATG GAT TGC ACA TTT GAA GAC-3'; 下游引物: 5'-GAG GGA AGC TCG GAG GCA AC-3', 扩增片段为379 bp。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH) mRNA引物: 上游引物: 5'-CCT TCA TTG ACC TCA ACT AC-3'; 下游引物: 5'-GGA AGG CCA TGC CAG TGA

■ 相关报道

Bloomgarden研究发现近年来研究发现细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)在IR和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生发展中起到非常重要的作用。SOCS-3一方面通过抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 导致NAFLD; 另一方面通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)促进脂肪酸合成, 导致NAFLD。

■创新盘点

本文从活血化痰通络中药下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA的表达,来探讨活血化痰通络中药治疗糖尿病脂肪肝可能作用机制。

GC-3', 扩增片段为594 bp。

1.2 方法

1.2.1 造模及给药: 除正常组外, 其余尾静脉注射链脲佐菌素(STZ)25 mg/kg, 临用前STZ按1%比例以柠檬酸缓冲液(pH 4, 0.1 mmol/L)稀释。于注射后72 h及1 wk时, 尾静脉采血, 若随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 确定为糖尿病造模成功。用基础饲料喂养2 wk后, 除正常组外, 改为高脂饲料喂养。中药购于河北省中医院中药房, 剂型为袋装免煎剂, 根据大鼠体质量称取相应中药1.2 g/(kg·d), 用2 mL的沸水冲泡, 凉至35℃左右灌胃; 正常组和模型组灌服等量生理盐水; 所有动物均于每天上午灌胃1次, 连续给药12 wk。实验完全结束, 禁食12-14 h, 以戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉, 经腹主动脉取血10 mL, 30 min内分离血清, 置80℃冰箱保存备用1 wk内进行检测, 并留取大鼠肝组织备用。

1.2.2 血脂测定: 生化法检测血清学指标甘油三脂(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)。

1.2.3 肝组织的病理观察: 苏木素伊红(HE)染色, 光镜下观察。

1.2.4 RT-PCR法检测SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA表达: (1)提取肝组织总RNA: 先将匀浆器插入冰中, 从-80℃冰箱中取组织100 mg左右, 放入匀浆器内, 然后加入1 mL TRIzol迅速研磨至无颗粒透明状然后转移至新的离心管中, 室温静置5 min, 4℃ 12000 r/min离心5 min, 然后小心吸取上清液于另一离心管中, 加入1/5体积的氯仿, 震荡混匀后室温静置5 min, 4℃ 12000 r/min离心15 min, 转移上层水相到另一新离心管中, 加入等体积的异丙醇, 充分混匀后室温静置10 min, 然后4℃ 12000 r/min离心10 min, RNA形成白色的小团沉淀在离心管的底部和侧面, 弃上清, 加入750 mL/L的乙醇1 mL, 4℃ 12000 r/min离心5 min, 尽量弃上清, 漂洗2-3次RNA沉淀, 最后在无菌工作台中干燥RNA沉淀5-10 min, 加入DEPC处理的50 μ L双蒸馏水, 55℃ -60℃温育10 min使RNA充分溶解, 随即使用或置于-80℃保存备用。取少许溶解的RNA, 用TE Buffer稀释后于紫外分光光度计260和280 nm处读A值, $A_{260/280} = 1.8-2.0$ 间方可使用, 总RNA浓度 = $A_{260} \times \text{稀释倍数} \times 0.04(\mu\text{g}/\mu\text{L})$, 用前调整为1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; (2)逆转录反应: 取总RNA 1 μg , 加入RT反应体系(含AMV Buffer, dNTPs, Oligo dT Primer, AMV, RNase Inhibitor等)于离心管中, 并

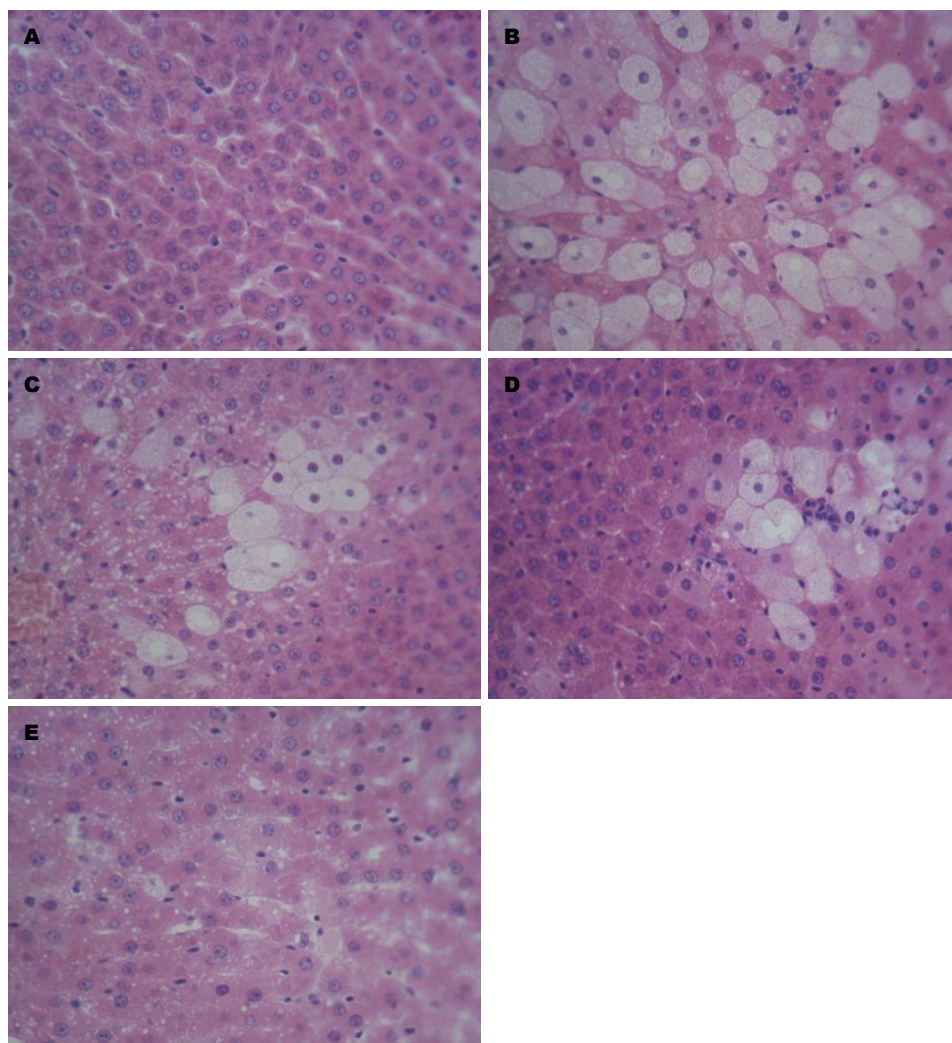
用DEPC处理水补足到20 μ L反应液体积, 震荡混匀后短暂离心, 加少许矿物油于PCR仪42℃ 30 min(cDNA合成), 99℃ 5 min(逆转录酶失活), 5℃ 5 min。-20℃保存备用; (3)PCR反应体系: 反应体系含Mix 10 μ L, cDNA 2 μ L, 上游引物 1 μ L, 下游引物 1 μ L, 补DEPC处理水至20 μ L, 震荡混匀后短暂离心, 加少许矿物油于PCR仪扩增。按各自反应条件进行扩增: SOCS-3反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 55℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min。SREBP-1c反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 56℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min。GAPDH反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 59℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min; (4)半定量分析: PCR产物在含5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-半乳糖苷(X-gal)的1%琼脂糖凝胶中电泳后, 置于凝胶分析系统(UVP公司, 美国)进行吸光度扫描, 用目的基因吸光度与内参(GAPDH)吸光度的比值来表示目的基因相对表达含量。

统计学处理 应用SPSS13.0统计分析软件进行统计分析, 数据以mean \pm SD表示。多组间比较采用单因素方差分析(One way ANOVA), 进一步两两比较采用SNK法。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏组织形态学改变 大体形态改变: 正常组大鼠肝脏外观大小形态正常, 轮廓光滑整齐, 色泽红润; 模型组大鼠肝脏外观呈弥漫性肿大, 边缘钝而厚, 表面光滑, 质如面团, 压迫时可出现凹陷, 表面色泽较苍白或带灰黄色, 切面可呈黄红或淡黄色, 有油腻感; 各药物干预组大鼠肝脏外观轻度肿大, 肉眼可见部分正常肝脏区域, 颜色为浅黄色, 油腻感减轻, 脂肪病变明显减轻。

2.2 HE染色观察肝组织病理学改变 脂肪肝的基本病理改变为肝细胞肿大, 充满大小不等的脂肪空泡(脂滴), 空泡大和多者可将肝细胞核推向一侧。数个含有脂肪滴的肝细胞可破裂, 形成脂肪囊肿, 囊肿破裂后可引起炎症反应。轻至中度脂肪变性在肝小叶中心区最为明显, 一般无明显的炎症反应和细胞坏死。重度脂肪变性整个肝小叶的肝细胞都有脂肪变性, 可伴有轻度局限性炎症和单纯性坏死, 另外还可伴有一定程度的肝纤维结缔组织增生。模型组2/3以上肝小叶的肝细胞



■应用要点
本文从活血化瘀通络中药改善糖尿病脂肪肝方面, 为临床治疗糖尿病脂肪肝提供新的思路。

图 1 各组大鼠HE染色. A: 正常组; B: 模型组; C: 中药1组; D: 中药2组; E: 中药3组.

表 1 各组大鼠体质量、血糖、甘油三酯、胆固醇结果 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	体质量(g)		血糖(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	胆固醇(mmol/L)
	实验前	实验后			
正常组	205.48 \pm 0.47	310.25 \pm 0.68	6.15 \pm 0.65	3.55 \pm 0.28	1.35 \pm 0.16
模型组	205.84 \pm 0.32	253.03 \pm 0.54 ^a	20.95 \pm 0.41 ^a	6.80 \pm 0.19 ^a	2.26 \pm 0.27 ^a
中药1组	205.65 \pm 0.42	234.79 \pm 0.93 ^{ac}	16.66 \pm 0.32 ^{ac}	5.36 \pm 0.24 ^{ac}	1.83 \pm 0.25 ^{ac}
中药2组	204.99 \pm 0.38	234.79 \pm 0.92 ^{ac}	16.58 \pm 0.34 ^{ac}	5.37 \pm 0.25 ^{ac}	1.82 \pm 0.23 ^{ac}
中药3组	204.96 \pm 0.46	233.29 \pm 0.65 ^{ac}	15.23 \pm 0.25 ^{ac}	5.01 \pm 0.22 ^{ac}	1.58 \pm 0.19 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^b $P < 0.05$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$ vs 中药3组.

都有脂肪变性, 有脂肪囊肿, 属于中重度脂肪变性; 各药物干预组大鼠脂肪变较模型组明显减轻; 合方组脂肪变较拆方组减轻(图1).

2.3 各组大鼠TC、TG、体质量及血糖比较 与正常组相比, 模型组及各药物干预组大鼠血清TC、TG水平明显升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血清TC、TG水平有明显降

低($P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组TG水平比中药1、2组低($P < 0.05$); 中药2组的TC、TG水平比中药1组低, 但没有统计学意义($P > 0.05$); 实验开始前, 正常组与实验组大鼠体质量没有明显差别($P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组及各药物干预组体质量明显下降($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠体质量明显下降($P < 0.05$); 中

■同行评价

本文为中药在临床上更好应用及药理研究提供基础和依据, 有一定的意义。

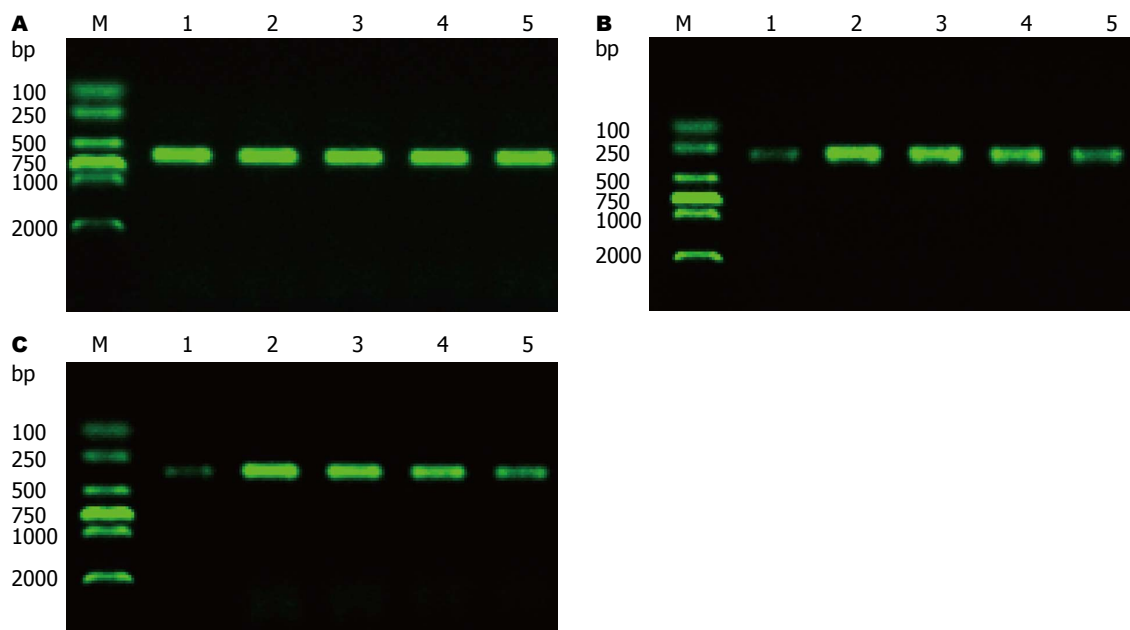


图2 RT-PCR法测定各组大鼠肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达. A: GAPDH mRNA的表达(594 bp); B: SOCS-3 mRNA的表达(286 bp); C: SREBP-1c mRNA的表达(379 bp). M: DNA Marker; 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 中药1组; 4: 中药2组; 5: 中药3组. SOCS-3: 细胞因子信号转导抑制物-3; SREBP-1c类固醇条件元件结合蛋白-1c.

表2 各组大鼠SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA RT-PCR结果 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	SOCS-3/GAPDH	SREBP-1c/GAPDH
正常组	0.189 \pm 0.002	0.176 \pm 0.00
模型组	0.885 \pm 0.227 ^a	0.861 \pm 0.020 ^a
中药1组	0.778 \pm 0.005 ^{ac}	0.751 \pm 0.003 ^{ac}
中药2组	0.633 \pm 0.678 ^{ac}	0.600 \pm 0.005 ^{ac}
中药3组	0.475 \pm 0.012 ^{ac}	0.382 \pm 0.014 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组; ^{ac} $P < 0.05$ vs 中药3组;

^a $P < 0.05$ vs 中药2组. SOCS-3: 细胞因子信号转导抑制物-3; SREBP-1c类固醇条件元件结合蛋白-1c.

药各组间比较: 中药3组大鼠体质量较中药1、2组明显下降($P < 0.05$), 中药1、2组大鼠体质量没有明显差别($P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组及各药物干预组大鼠血糖明显升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血糖明显降低($P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组大鼠血糖较中药1、2组明显下降($P < 0.05$), 中药1、2组大鼠血糖没有明显差别($P > 0.05$)(表1).

2.4 RT-PCR法测定各组大鼠肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达 与正常组相比, 模型组及各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均增强($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均减弱($P < 0.05$); 与中药3组相比, 中药1、2组SOCS-3和SREBP-

1c表达均减弱($P < 0.05$); 与中药1组比较, 中药2组SOCS-3和SREBP-1c表达减弱($P < 0.05$). 相关分析显示, SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA呈正相关($r = 0.978$, $P < 0.05$)(图2, 表2).

3 讨论

随着生活水平的提高和饮食结构的改变, NAFLD已经成为现代社会最常见的肝病之一^[6]. 糖尿病脂肪肝属于NAFLD的范畴. 目前, “二次打击”学说作为NAFLD的经典发病机制, 已经被广泛接受. 首次打击主要是指脂肪在肝脏实质细胞内的过度聚集, 这一过程已经被证实与胰岛素抵抗有关, 胰岛素抵抗会导致细胞内甘油三酯的合成与转运功能紊乱. 因此, 改善胰岛素抵抗对NAFLD有一定的治疗作用^[7].

SOCS家族是近年发现的受细胞因子诱导的蛋白质家族. 人的SOCS-3基因与大鼠、小鼠的同源性约90%. SOCS-3广泛分布于胸腺、脑、心脏、骨骼肌、肝脏、白色脂肪、胰腺、肾脏、肺、胎盘、前列腺、外周血白细胞、卵巢、睾丸、小肠、大肠等组织器官^[8]. SOCS-3可通过多个环节, 抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 最终导致NAFLD的发生, 其机制主要包括以下几个方面: (1)竞争性结合胰岛素受体抑制胰岛素信号传导: SOCS-3可以竞争性结合胰岛素受体^[9], 抑制了STAT5b的磷酸化及其

对胰岛素受体底物蛋白(IRS)的磷酸化作用,从而抑制了胰岛素信号的传导;(2)抑制JAK活化:SOCS-3通过与磷酸化的JAK结合,抑制JAK的激酶活性^[10],进而抑制胰岛素诱导的JAK活化,导致胰岛素抵抗的发生;(3)降解IRS,进而抑制胰岛素信号传导,导致胰岛素抵抗^[11]。

SOCS-3还可通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding proteins -1c, SREBP-1c)的表达使脂肪酸合成增加及肝脏脂肪沉积,引起NAFLD。STAT是抑制SREBP-1c启动子活性的分子,SOCS-3是JAK/STAT通路的负反馈抑制因子,SOCS-3表达的增加可下调STAT,进而导致SREBP-1c表达的增加,造成了脂肪在肝脏的沉积。SREBP-1c是一种核转录因子,又称脂肪细胞定向和分化因子1,他直接参与调控有关脂肪酸、甘油三酯合成和葡萄糖代谢相关酶基因的表达,包括乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)和固醇酰辅酶A脱氢酶1(SCD-1),能激活脂肪酸合成途径中多种基因转录子,启动合成程序,从而使肝脏脂质尤其是甘油三酯含量增加,从而导致肝脏脂肪变性^[12]。曾有研究^[13]表明利用反义寡核苷酸的方法可以明显的降低SREBP-1c的表达,同样地,由SREBP-1c直接转录的脂肪酸合成酶ACC、FAS和SCD-1也明显的降低。还有一项研究利用基因重组技术产生缺乏SREBP-1c编码基因的小鼠,并且发现这类突变小鼠肝脏中脂肪酸的合成明显下降^[14],这些研究表明降低SREBP-1c的表达,可以改善肝脏脂肪变性。SREBP-1c表达增加导致游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)的合成增多^[15]。FFA可抑制外周葡萄糖的利用及氧化,抑制合成肌糖原,使血糖升高;FFA又促进糖异生,诱发高胰岛素血症^[16],脂肪细胞接受升高的胰岛素信号后,加强对脂肪的分解,大量的FFA被转运到肝细胞中,在高胰岛素血症刺激下大量合成脂肪酸,导致肝脏脂质沉积,而脂质的异位沉积可加重胰岛素抵抗,形成恶性循环^[17]。

脂肪肝相当于中医学中的“积聚”与“痰痞”,其基本病机为嗜食肥甘厚味,滋生痰浊,痰湿阻滞,导致气机郁滞,血脉瘀阻,气、血、痰、浊互相搏结,聚滞为积,阻于肝络,发为本病,故临床上多采用活血化癥通络的治疗方法,并取得良好疗效。

本实验采用高脂高胆固醇饲料加小剂量STZ制备糖尿病性脂肪肝大鼠模型,应用活血

化癥通络中药的拆方与合方治疗糖尿病脂肪肝大鼠,观察活血化癥通络中药对脂肪肝的作用和对SOCS-3和SREBP-1c表达的影响,并将活血中药、通络中药及合方中药进行比较,以探讨其疗效及可能机制。结果显示:活血化癥通络中药能显著改善脂肪变性,降低SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达,合方明显优于拆方组,通络组疗效优于活血组,提示活血化癥通络中药可明显改善改善糖尿病性脂肪肝大鼠的脂肪变性,其机制可能与其下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA表达有关,且活血中药和通络中药具有协同作用。

4 参考文献

- 1 苗述楷, 蔡慧文. 糖尿病并发症防治学. 第2版. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 145-149
- 2 Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5286-5296 [PMID: 21072891 DOI: 10.3748/wjg.v16.i42.5286]
- 3 唐启盛. 抑郁症-中西医基础与临床. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 217-227
- 4 Bloomgarden ZT. Second World Congress on the Insulin Resistance Syndrome: insulin resistance syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2005; 28: 1518-1523 [PMID: 15920084 DOI: 10.2337/diacare.28.6.1518]
- 5 陆付耳, 董慧, 高志强. 中药肝脂复煎剂对酒精和高脂饲养诱导的大鼠脂肪肝的影响. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1596-1599
- 6 Erickson SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl: S412-S416 [PMID: 19074370 DOI: 10.1194/jlr.R800089-JLR200]
- 7 Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 695-708 [PMID: 20955971 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.08.005]
- 8 Dey BR, Furlanetto RW, Nissley P. Suppressor of cytokine signaling (SOCS)-3 protein interacts with the insulin-like growth factor-I receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 38-43 [PMID: 11071852 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3762]
- 9 Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D, Hilton D, Van Obberghen E. SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J Biol Chem* 2000; 275: 15985-15991 [PMID: 10821852 DOI: 10.1074/jbc.275.21.15985]
- 10 Leonard WJ. Role of Jak kinases and STATs in cytokine signal transduction. *Int J Hematol* 2001; 73: 271-277 [PMID: 11345192]
- 11 Rui L, Yuan M, Frantz D, Shoelson S, White MF. SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 2002; 277: 42394-42398 [PMID: 12228220]
- 12 Ueki K, Kadowaki T, Kahn CR. Role of suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 in hepatic steatosis and the metabolic syndrome. *Hepatol Res* 2005; 33: 185-192 [PMID: 16226915]
- 13 Frederico MJ, Vitto MF, Cesconetto PA, Engelmann J, De Souza DR, Luz G, Pinho RA, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT. Short-term inhibition of SREBP-1c expression reverses diet-induced non-

- alcoholic fatty liver disease in mice. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1381-1388 [PMID: 21936721]
- 14 Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 846-854 [PMID: 9062341 DOI: 10.1172/JCI119248.]
- 15 Joseph SB, Laffitte BA, Patel PH, Watson MA, Matsukuma KE, Walczak R, Collins JL, Osborne TF, Tontonoz P. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 11019-11025 [PMID: 11790787]
- 16 Ueki K, Kondo T, Tseng YH, Kahn CR. Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10422-10427 [PMID: 15240880 DOI: 10.1073/pnas.0402511101]
- 17 McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 7-18 [PMID: 11756317 DOI: 10.2337/diabetes.51.1.7]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义

李锦锦, 李 潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群

李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

李锦锦, 在读硕士, 主要从事肝胆外科疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由柴新群与李锦锦设计; 研究过程由李锦锦、李潼、孟元普及吴军卫操作完成; 论文写作由李锦锦与柴新群完成

国家自然科学基金资助项目, No. 81070159

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-07-01 修回日期: 2013-07-31

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits

Jin-Jin Li, Tong Li, Yuan-Pu Meng, Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai

Jin-Jin Li, Tong Li, Yuan-Pu Meng, Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070159

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-07-01 Revised: 2013-07-31

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the significance of expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) and matrix metalloproteinase 1 (MMP1) in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits.

METHODS: A model of bile duct injury caused by electrocautery was established in rabbits. Expression and location of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: Expression of TGF- β 1 and MMP1

showed no significant differences between the normal control group and sham operation group. Sustained high expression of TGF- β 1 and low expression of MMP1 were observed in later stage in the operation group. With the prolongation of the time of inflammatory state, the expression of TGF- β 1 showed a negative correlation with MMP1 in the operation group.

CONCLUSION: High expression of TGF- β 1 and low expression of MMP1 are important factors leading to bile duct stricture, and they have a synergistic effect in leading to biliary fibrosis and cicatrization.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile duct injury; Bile duct stricture; Transforming growth factor-beta 1; Matrix metalloproteinase 1

Li JJ, Li T, Meng YP, Wu JW, Chai XQ. Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3097-3101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3097.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3097>

摘要

目的: 观察转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)与基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)在兔胆管电灼烧伤中的表达, 并探讨两者在胆管狭窄形成中的关系、作用及意义。

方法: 建立兔胆管电损伤模型, 分别于术后4、8 wk取材, 分别行TGF- β 1与MMP-1免疫组织化学染色, 观察其阳性细胞数。

结果: 两者在正常胆管组织及假手术组中的表达无统计学意义。TGF- β 1在电灼伤各组中持续高表达, 而MMP-1在电损伤4 wk中高表达、8wk中呈低表达。两者在电灼伤狭窄胆管中的表达明显高于正常胆管组织, 假手术组($P<0.05$)。TGF- β 1在4 wk(75.35 ± 5.00)、

■背景资料

良性胆管狭窄是胆道外科的棘手问题, 病情病程长, 易反复引起胆道感染及多种严重的并发症, 常因医源性胆道损伤引起。由于腔镜技术的普及, 医源性胆道损伤的发生率在提高, 而胆管电损伤有其自身特点, 引起的后果更加严重, 因此本文旨在探讨电损伤中的狭窄形成机制。

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■ 研发前沿

随腔镜技术的应用的普及,由腹腔镜手术导致的医源性胆管损伤的发生率上升,术后表现为炎症、瘢痕挛缩和狭窄,形成显著的良性狭窄,但狭窄的发生机制却是未解之谜。

8 wk(74.4 ± 6.60)组中的表达无统计学差异, MMP-1在4 wk(42.4 ± 5.16)、8 wk(17.2 ± 3.88)中的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。TGF- β 1与MMP-1两者在狭窄胆管组织中的表达随炎症时间延长呈负相关($r = -0.218$)。

结论: TGF- β 1持续高表达与MMP-1后期低表达是造成胆管狭窄的重要因素,并且两者在胆管纤维化增厚、瘢痕形成过程中具有协同的作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆管损伤; 胆管狭窄; 转化生长因子- β 1; 基质金属酶-1

核心提示: 本研究中发现电损伤胆管的早期和晚期均可见转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)的持续高表达,这与对照组和假手术组有明显的统计学差异,但是手术组间无统计学意义,这表明TGF- β 1的持续分泌是狭窄形成的重要成因,这与国内外相关报道一致。此外,本研究中发现基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)随炎症时间的延长分泌而减少,是造成炎症后细胞外基质合成和降解失衡的重要原因。持续高表达的TGF- β 1诱导细胞分泌胶原蛋白、弹性纤维等,造成细胞外基质大量沉积挛缩,并抑制MMP-1的释放导致基质合成和降解的失衡,最终在两者的共同作用下形成狭窄。

李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群. TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3097-3101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3097.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3097>

0 引言

胆道良性狭窄是胆道外科非常棘手的问题,常由腹腔镜胆囊切除术所致的医源性胆管损伤引起^[1],随着腔镜技术的广泛应用,医源性胆管损伤的发生率由0.4%上升至0.5%^[2,3],国内大宗病例研究显示胆管电灼伤约占18.3%^[4]。胆管损伤后常以炎症疤痕挛缩和狭窄为突出表现,尤以肝门部或肝门部以上胆管狭窄显著^[5]。但是胆道良性狭窄的发病机制仍是未知^[6]。

有关研究表明^[7,8]纤维细胞的分化和激活是产生纤维性病变的重要事件,纤维细胞分化为肌纤维细胞并持续大量存在是造成瘢痕挛缩和纤维病变的主要原因。而转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)是

纤维细胞转化和激活的强有力的诱导者^[7,9]。分化成的肌成纤维细胞可分泌胶原,造成大量细胞外基质沉积,导致瘢痕增厚,而基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)作为主要的胶原酶参与细胞外基质的降解和重建。本研究旨在探讨两者在胆管损伤后所致狭窄中作用。

1 材料和方法

1.1 材料 选用健康家兔25只(购自华中科技大学同济医学院动物实验中心)雌雄不限,平均体质量 $2.1 \text{ kg} \pm 0.14 \text{ kg}$,随机分为对照组、假手术组、实验组、假手术组和实验组根据术后处理时间分为2个亚组(术后4、8 wk组),各组5只。术前各组的体质量、进食量、精神状态无明显差异。手术器械由武汉协和医院手术室提供。

1.2 方法

1.2.1 各分组的处理: 同等条件下饲养,术日晚禁饮食,假手术组与实验组用3%的戊巴比妥钠(1 mL/kg)经耳缘静脉麻醉,麻醉满意后备皮、消毒、铺巾,参照文献^[10]对实验组建立电灼伤模型,假手术组仅作开腹,对照组不做任何处理;术后3 d连续肌注单位青霉素80万单位。

1.2.2 取材: 术后4、8wk采用空气栓塞法处死后取材,实验组剪取损伤部位胆管1 cm,假手术组及对照组分别剪取相应部位胆管1 cm,生理盐水漂洗胆管,4%多聚甲醛固定,常规制作石蜡包块,沿胆总管横断面连续切片,厚度 $5 \mu\text{m}$,行HE染色及免疫组织化学染色。

1.2.3 免疫组织化学: 采用SP法,第一抗体:抗兔TGF- β 1抗体(武汉博士德公司),抗兔MMP-1抗体(北京博奥森公司),抗兔/鼠通用型免疫组织化学试剂盒REALTMEnVision+/HRP RABBIT/MOUSE(Dako Denmark A/S生产)。牛血清白蛋白(Roche,北京索莱宝科技有限公司分装)染色步骤:组织切片常规脱蜡至水;切片置于EDTA中行微波修复;3% H_2O_2 中室温下孵育5-10 min,灭活内源性酶,蒸馏水冲洗3次;PBS冲洗,行电炉高温抗原修复;滴加5%BSA封闭液,37℃孵育30 min,滴加一抗,工作浓度1:50,4℃过夜;PBS液冲洗5 min \times 3次,滴加二抗,4℃孵育50 min, PBS液冲洗5 min \times 3次;滴加新鲜配制DAB显色液,显微镜下控制染色,显色完全后,蒸馏水或自来水冲洗,苏木素复染,1%盐酸乙醇分化(1 s),自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗;脱水、透明、封片、观察。对照设计:用已知的TGF- β 1与MMP-1的阳性切片作为阳性对照;空白对照

表 1 各组中MMP-1 TGF- β 1的表达程度及阳性细胞数 (mean \pm SD)

	MMP-1	阳性细胞	TGF- β 1	阳性细胞
正常组	--+	7.4 \pm 3.15	--+	7.4 \pm 3.2
假手术4 wk	--+	9.1 \pm 4.72	--+	10.3 \pm 4.04
假手术8 wk	--+	11.0 \pm 2.79	--+	13.0 \pm 2.94
手术4 wk	+++	42.4 \pm 5.16	+++	75.35 \pm 5.00
手术8 wk	+++	17.2 \pm 3.88	+++	74.4 \pm 6.60

TGF- β 1: 转化生长因子- β 1; MMP-1: 基质金属酶-1.

■ 相关报道

国内外报道一致认为TGF- β 1与狭窄形成紧密相关, 国内学者相关研究同样表明TGF- β 1在良性胆管狭窄中具有重要作用.

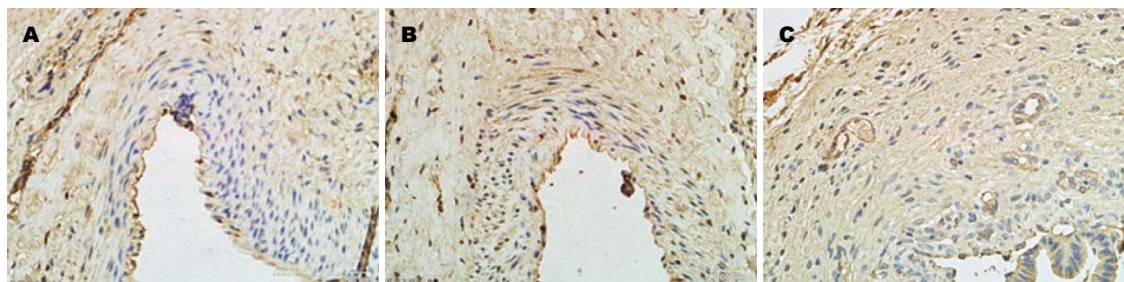
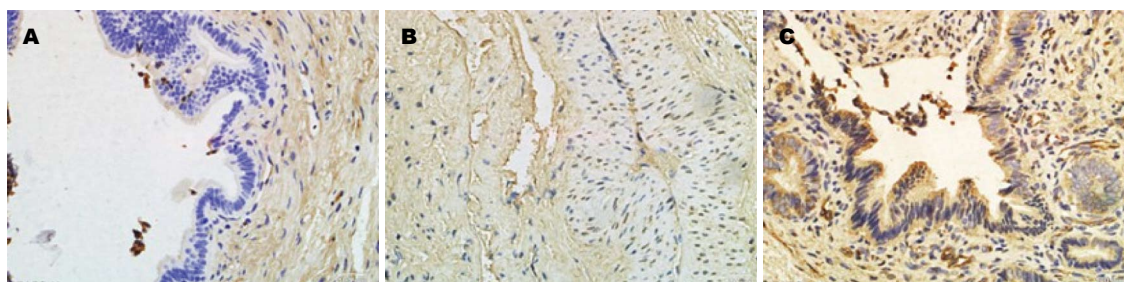


图 1 MMP-1在各组中的表达. A: 正常组; B: 假手术组; C: 手术组. MMP-1: 基质金属酶-1.

图 2 TGF- β 1在各组中的表达. A: 正常组; B: 假手术组; C: 手术组. TGF- β 1: 转化生长因子- β 1.

中选用PBS代替一抗, 其余步骤同前; 置换实验中用正常鼠的血清代替一抗, 其余步骤同前.

1.2.4 结果判定标准: 细胞质和/或核内见淡黄色颗粒明显高于背景色为阳性. 细胞着色强度分以下等级: “-”为阴性细胞; “+”为细胞核和/或细胞质染成淡棕黄色; “+++”为深棕黄色; “++”则介于两者之间. 每张切片高倍镜下(400 \times)随机选取5个视野, 计数每个视野中的阳性细胞数及百分比, 取其均数进行定量分析.

统计学处理 采用SPSS18.0统计软件进行分析, 差异性分析采用单因素方差分析(One-factor ANOVA), $\alpha = 0.05$, 相关性分析采用Pearson积差相关系数, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 实验组有2只兔子分别于术后第3、5天因胆漏死亡. 其余全部成活, 共23只. 术

后早期观察各组在饮食、精神状态、活动反应无明显差异. 实验组术后1 mo可见食欲下降、反应迟钝、毛色黯淡、小便色染等梗阻性黄疸表现. 假手术组胆管周围黏连, 胆管无扩张, 实验组可见腹腔明显黏连, 电损伤以上胆管可见明显扩张, 肝脏呈淤胆表现.

2.2 免疫组织化学结果 正常胆管组织中可见极少量的TGF- β 1与MMP-1的表达(TGF- β 1: 7.4 \pm 3.2, MMP-1: 7.4 \pm 3.15), 表达部位主要是管周组织. 假手术组中4、8 wk均见TGF- β 1与MMP-1少量表达(4 wk: TGF- β 1: 10.3 \pm 4.04, MMP-1: 9.1 \pm 4.72; 8 wk: TGF- β 1: 13.0 \pm 2.94, MMP-1: 11.0 \pm 2.79), 主要表达在炎性细胞, 两者在假手术组与对照组中的表达均无明显统计学意义. 实验组中4、8 wk均可见TGF- β 1与MMP-1的高表达(4 wk: TGF- β 1: 75.35 \pm 5.00, MMP-1: 42.4 \pm 5.16; 4 wk: TGF- β 1: 74.4 \pm 6.60, MMP-1: 17.2 \pm 3.88),

■创新盘点

本研究密切联系临床, 并且从基质形成和降解两个不同角度分期、分别探讨狭窄形成的机制。

组内比较TGF- β 1(75.35 ± 5.00 vs 74.4 ± 6.60)无明显统计学差异, MMP-1实验组内有明显统计学差异(42.4 ± 5.16 vs 17.2 ± 3.88 , $P < 0.05$)。两者的表达在实验组与对照组、假手术组中均有明显的统计学差异($P < 0.05$)。随炎症反应时间的延长, 两者在实验8 wk组中表达呈负相关($r = -0.218$, 表1, 图1, 2)。

3 讨论

胆管的电灼伤虽然占胆管损伤的18.3%^[4], 但文献报道有确实的证据可表明胆管电灼伤不容忽视, 可引起急性胆管炎、急性胆源性胰腺炎、胆囊三角再出血、严重的瘢痕或挛缩^[11-13]。并且胆管电损伤具有不同于其他损伤的特点: (1)术中不易发现, 术中常规胆道造影似乎不能提高诊断率^[13]; (2)损伤范围广、位置高, 研究表明^[14]单极电烧工作产生的热量足以引起损伤处1 cm内的细胞膜的破坏; (3)发展缓慢, 可表现为电灼伤-坏死-穿孔-胆漏的过程^[15]; (4)常合并胆管周围血管丛的损伤, 出现迟发型的狭窄和挛缩。

胆管损伤修复属于高度的纤维性修复, 修复细胞的大量增殖与凋亡抑制、细胞外基质中胶原合成与降解、部分细胞因子的大量产生及三者密切关系是构成其炎症疤痕的生物学基础^[16]。TGF- β 1是一种参与细胞增殖、细胞分化、免疫应答、纤维修复的多功能细胞因子^[17,18], 是目前已知与纤维化、瘢痕发生发展最密切的细胞因子^[19,20]。损伤部位TGF- β 1前体是由血小板释放, 经酶激活后, 诱导纤维细胞的转化并刺激产生胶原及细胞外基质, 趋化、诱导炎症细胞, 通过自分泌、旁分泌形成TGF- β 的“正反馈”机制。早期的TGF- β 1的释放, 有利于损伤的修复, 但持续高表达的释放可能是造成瘢痕狭窄的重要原因。本研究结果显示正常胆管不表达或弱阳性表达TGF- β 1, 假手术组中的TGF- β 1的可见弱阳性表达, 但与对照组无明显统计学差异, 可能与分离胆管破坏胆管周围血管丛有关, 并且亚组之间无统计学意义。实验组中可见持续高表达, 主要表达在成纤维细胞、炎症细胞、血管内皮细胞, 与国内相关报道相符^[21,22]。此外, 我们在损伤处的胆管细胞内发现TGF- β 1的高表达, 之前文献未见相关报道, 可能与胆管缺氧、胆盐刺激有关。本研究中实验亚组术后均可见大量炎症细胞中持续强表达TGF- β 1, 并且亚组之间无统计学意义, 证实炎症细胞是产生TGF- β 1的主要细胞, 间接证实炎症反应时间长短与瘢痕形

成有密切关系。

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解之间的动态平衡受到破坏是导致ECM过度沉积形成瘢痕的重要原因。文献报道TGF- β 1在瘢痕形成过程中能够促进成纤维细胞大量合成I型、III型和VIII型胶原蛋白、弹性纤维和纤连蛋白, 并对于漂浮和固定的胶原基质, 都能使之发生挛缩^[23,24]。基质金属酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一组依赖于Zn²⁺以细胞外基质作为底物的蛋白质水解酶类, 其中MMP-1是通过裂解胶原、改变胶原结构参与I型、III型胶原降解的胶原酶。本实验中正常对照组无或少量MMP-1的表达, 假手术组有少量表达, 与正常组无统计学意义, 实验4 wk组中MMP-1强阳性表达, 8 wk组呈阳性表达, 两者之间有明显的统计学差异($P < 0.05$)。理论上讲, 随损伤时间的延长, 细胞外基质内过度沉积的胶原可诱导MMP-1的高表达, 以加速胞外基质改建。但MMP-1的表达受激素、细胞因子等多种因素调控, 文献报道TGF- β 1可以直接抑制MMP的表达, 并能促进组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)的释放^[25]。本研究中发现损伤胆管中TGF- β 1与MMP-1的随时间表达呈负相关, 从而可证实高表达的TGF- β 1抑制MMP-1的释放, 并随损伤时间的延长, 其抑制作用增强, 造成其降解作用减弱, 胶原合成和分解失衡, 细胞外基质大量沉积, 从而瘢痕形成。

本研究中损伤胆管周围可见大量炎症细胞、纤维组织排列紊乱、明显增生, 缺氧和胆汁刺激可能是持续炎症反应的诱因。持续的炎症反应诱导TGF- β 1的高表达, 高表达的产物刺激诱导纤维细胞的分化, 使之分泌过量的胶原沉积于胞外, TGF- β 1又通过抑制MMP-1的分泌, 破坏细胞外基质之间的动态平衡, 最终导致瘢痕狭窄。鉴于胆管电灼伤的严重后果及自身特点, 因此在手术中应尽量避免损伤, 但对于损伤患者如何在炎症后期减少TGF- β 1的过度分泌或增加MMP-1的分泌, 减轻狭窄瘢痕, 有待于进一步的研究。

4 参考文献

- 1 Larghi A, Tringali A, Lecca PG, Giordano M, Costamagna G. Management of hilar biliary strictures. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 458-473 [PMID: 18028506]
- 2 Waage A, Nilsson M. Iatrogenic bile duct injury: a population-based study of 152 776 cholecystectomies in the Swedish Inpatient Registry. *Arch*

- Surg* 2006; 141: 1207-1213 [PMID: 17178963 DOI: 10.1001/archsurg.141.12.1207]
- 3 Pottakkat B, Vijayahari R, Prakash A, Singh RK, Behari A, Kumar A, Kapoor VK, Saxena R. Incidence, pattern and management of bile duct injuries during cholecystectomy: experience from a single center. *Dig Surg* 2010; 27: 375-379 [PMID: 20948214 DOI: 10.1159/000314813]
- 4 吴青松, 刘吉佳, 谢文彪, 蔡泽平. 腹腔镜胆囊切除术胆管损伤的现状分析. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 207-209
- 5 Xu J, Geng ZM, Ma QY. Microstructural and ultrastructural changes in the healing process of bile duct trauma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 295-299 [PMID: 14599988]
- 6 Geng ZM, Zheng JB, Zhang XX, Tao J, Wang L. Role of transforming growth factor-beta signaling pathway in pathogenesis of benign biliary stricture. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4949-4954 [PMID: 18756605 DOI: 10.3748/wjg.14.4949]
- 7 Thannickal VJ, Lee DY, White ES, Cui Z, Larios JM, Chacon R, Horowitz JC, Day RM, Thomas PE. Myofibroblast differentiation by transforming growth factor-beta1 is dependent on cell adhesion and integrin signaling via focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 2003; 278: 12384-12389 [PMID: 12531888 DOI: 10.1074/jbc.M208544200]
- 8 Demetris AJ, Lunz JG, Specht S, Nozaki I. Biliary wound healing, ductular reactions, and IL-6/gp130 signaling in the development of liver disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3512-3522 [PMID: 16773708]
- 9 Martin-Garrido A, Brown DI, Lyle AN, Dikalova A, Seidel-Rogol B, Lassègue B, San Martín A, Griendling KK. NADPH oxidase 4 mediates TGF- β -induced smooth muscle α -actin via p38MAPK and serum response factor. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 354-362 [PMID: 21074607 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.007]
- 10 纳钊, 邹浩, 魏东, 张小文, 沈需, 王滔. 日本大耳兔胆管电灼损伤致瘢痕狭窄模型的建立. *昆明医学院学报* 2011; 32: 7-10
- 11 Družijanić N, Pogorelić Z, Perko Z, Mrkljić I, Tomić S. Comparison of lateral thermal damage of the human peritoneum using monopolar diathermy, Harmonic scalpel and LigaSure. *Can J Surg* 2012; 55: 317-321 [PMID: 22854112 DOI: 10.1503/cjs.000711]
- 12 Humes DJ, Ahmed I, Lobo DN. The pedicle effect and direct coupling: delayed thermal injuries to the bile duct after laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 2010; 145: 96-98 [PMID: 20083761 DOI: 10.1001/archsurg.2009.236]
- 13 Giger U, Ouassii M, Schmitz SF, Krähenbühl S, Krähenbühl L. Bile duct injury and use of cholangiography during laparoscopic cholecystectomy. *British Journal of Surgery* 2011; 98: 391-396 [PMID: 21254014 DOI: 10.1002/bjs.7335]
- 14 Sutton PA, Awad S, Perkins AC, Lobo DN. Comparison of lateral thermal spread using monopolar and bipolar diathermy, the Harmonic Scalpel and the Ligasure. *Br J Surg* 2010; 97: 428-433 [PMID: 20101674 DOI: 10.1002/bjs.6901]
- 15 全小刚, 徐大华, 孙家邦, 李铎, 刘家峰. 腹腔镜胆囊切除术中胆管损伤的特点、处理及预防. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 593-595
- 16 陈卫明, 李彦旭, 柴新群, 冯贤松. 胆管炎性狭窄疤痕组织中PDGF和CTGF的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 891-895
- 17 Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 998-1008 [PMID: 17435785 DOI: 10.1038/sj.jid.5700786]
- 18 Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1350-1358 [PMID: 10793168 DOI: 10.1056/NEJM200005043421807]
- 19 Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology* 2001; 34: 859-867 [PMID: 11679955 DOI: 10.1053/jhep.2001.28457]
- 20 Nagashio Y, Ueno H, Imamura M, Asaumi H, Watanabe S, Yamaguchi T, Taguchi M, Tashiro M, Otsuki M. Inhibition of transforming growth factor beta decreases pancreatic fibrosis and protects the pancreas against chronic injury in mice. *Lab Invest* 2004; 84: 1610-1618 [PMID: 15502860 DOI: 10.1038/labinvest.3700191]
- 21 耿智敏, 刘青光, 潘承恩, 向国安, 韩庆, 刘效恭, 苏宝山. 良性胆管狭窄形成机制的实验研究. *中华肝胆外科杂志* 2001; 7: 618-620
- 22 王国辉, 蒋桂星, 崔云甫, 胡占良. TGF- β 1在大鼠胆管损伤修复过程中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 502-505
- 23 Pandit A, Ashar R, Feldman D. The effect of TGF-beta delivered through a collagen scaffold on wound healing. *J Invest Surg* 1999; 12: 89-100 [PMID: 10327078 DOI: 10.1080/089419399272647]
- 24 耿智敏, 向国安, 韩庆, 刘效恭, 苏宝山, 刘青光, 潘承恩. 转化生长因子 β 1在胆管愈合过程中的表达及意义. *中国普外基础与临床杂志* 2000; 7: 362-363
- 25 Philips N, Keller T, Gonzalez S. TGF beta-like regulation of matrix metalloproteinases by anti-transforming growth factor-beta, and anti-transforming growth factor-beta 1 antibodies in dermal fibroblasts: Implications for wound healing. *Wound Repair Regen* 2004; 12: 53-59 [PMID: 14974965 DOI: 10.1111/j.1067-1927.2004.012111.x-1]

■同行评价

本文内容新颖、通俗易懂,对良性胆管狭窄机制的研究有一定的学术价值,对指导治疗有一定帮助。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制

李海素, 杨崇美

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性炎症性肠病, 在我国发病率有逐年上升的趋势, 其发病机制尚不完全明确, 目前临床主要用药为5-氨基水杨酸类、糖皮质激素类及免疫抑制剂, 长期应用不良反应大, 患者依从性差, 易复发。

李海素, 杨崇美, 山东大学附属省立医院消化内科 山东省济南市 250021

李海素, 2011级山东大学医学院硕士研究生, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本实验的设计、研究过程及论文书写由李海素完成; 杨崇美负责审校与监督。

通讯作者: 杨崇美, 主任医师, 250021, 山东省济南市经五纬七路324号, 山东大学附属省立医院消化内科。

yangchongmei@medmail.com.cn

电话: 0531-86886355

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-08-28

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice

Hai-Su Li, Chong-Mei Yang

Hai-Su Li, Chong-Mei Yang, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China

Correspondence to: Chong-Mei Yang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwu Weiqi Road, Jinan 250021, Shandong Province, China. yangchongmei@medmail.com.cn

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-08-28

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the mechanisms underlying therapeutic effects of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor against ulcerative colitis in mice.

METHODS: Thirty male Balb/c mice were randomly divided into five groups: a normal group, an experimental colitis group, a DPP-4 inhibitor treatment group, a sulfasalazine (SASP) treatment group, and a DPP-4 inhibitor plus SASP treatment group. Ulcerative colitis was induced in mice with 5% dextran sulfate sodium. The normal group and experimental colitis group were intragastrically given 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC), and the DPP-4 inhibitor group, SASP group and DPP-4 inhibitor plus SASP group were given sitagliptin, SASP, and both the two drugs once a day, respectively. Disease ac-

tivity index (DAI) was assessed every day. After six days, all mice were sacrificed. Colonic pathological changes, myeloperoxidase (MPO) activity and serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) and glucagon-like peptid-2 (GLP-2) were detected.

RESULTS: MPO activity and serum TNF- α level in the DPP-4 inhibitor group, SASP group and the combination group were significantly lower than those in the experimental colitis group (MPO activity: $1.20 \text{ U/g} \pm 0.19 \text{ U/g}$, $0.96 \text{ U/g} \pm 0.07 \text{ U/g}$, $0.81 \text{ U/g} \pm 0.06 \text{ U/g}$ vs $1.81 \text{ U/g} \pm 0.23 \text{ U/g}$, all $P < 0.01$; $81.24 \text{ ng/L} \pm 9.12 \text{ ng/L}$, $67.86 \text{ ng/L} \pm 9.32 \text{ ng/L}$, $53.37 \text{ ng/L} \pm 9.08 \text{ ng/L}$ vs $106.86 \text{ ng/L} \pm 17.02 \text{ ng/L}$, all $P < 0.01$). Serum GLP-2 level was significantly higher in the DPP-4 inhibitor group and the combination group than in the experimental group ($55.07 \text{ pmol/L} \pm 4.43 \text{ pmol/L}$, $58.07 \text{ pmol/L} \pm 5.43 \text{ pmol/L}$ vs $33.10 \text{ pmol/L} \pm 3.22 \text{ pmol/L}$, both $P < 0.01$). Serum IL-10 level was significantly higher in the SASP group and the combination group than in the experimental group ($58.10 \text{ pg/mL} \pm 2.72 \text{ pg/mL}$, $60.68 \text{ pg/mL} \pm 2.35 \text{ pg/mL}$ vs $38.20 \text{ pg/mL} \pm 2.61 \text{ pg/mL}$, both $P < 0.01$).

CONCLUSION: DPP-4 inhibitor has a synergistic effect with SASP possibly by exerting an anti-inflammatory effect and up-regulating serum level of GLP-2.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor; Dextran sulfate sodium; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-10; Glucagon-like peptid-2

Li HS, Yang CM. Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3102-3106
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3102.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3102>

摘要

目的: 初步探讨二肽基肽酶-4(dipeptidyl

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

peptidase-4, DPP-4)抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的作用机制。

方法: 将30只♂ Balb/c小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、DPP-4抑制剂治疗组、柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)治疗组、DPP-4抑制剂和SASP联合治疗组。除空白对照组外, 其余各组用5%葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导小鼠UC模型, 空白对照组和模型对照组给予0.5%羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)灌胃, DPP-4抑制剂组、SASP组、联合治疗组分别给予西格列汀、SASP及两者联合灌胃治疗, 1次/d, 每天记录小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)值, 6 d后处死小鼠, 分离结肠组织, 进行病理组织学观察, 检测结肠组织髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性, 采用ELISA法测定小鼠血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)、胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid-2, GLP-2)水平。

结果: 与模型对照组MPO活性($1.81 \text{ U/g} \pm 0.23 \text{ U/g}$)相比, DPP-4抑制剂组($1.20 \text{ U/g} \pm 0.19 \text{ U/g}$)、SASP组($0.96 \text{ U/g} \pm 0.07 \text{ U/g}$)、联合治疗组($0.81 \text{ U/g} \pm 0.06 \text{ U/g}$)MPO活性均显著降低($P < 0.01$); 与模型对照组血清TNF- α 水平($106.86 \text{ ng/L} \pm 17.02 \text{ ng/L}$)相比, DPP-4抑制剂组($81.24 \text{ ng/L} \pm 9.12 \text{ ng/L}$)、SASP组($67.86 \text{ ng/L} \pm 9.32 \text{ ng/L}$)、联合治疗组($53.37 \text{ ng/L} \pm 9.08 \text{ ng/L}$)血清TNF- α 水平均显著降低($P < 0.01$); 与模型对照组血清GLP-2水平($33.10 \text{ pmol/L} \pm 3.22 \text{ pmol/L}$)相比, DPP-4抑制剂组($55.07 \text{ pmol/L} \pm 4.43 \text{ pmol/L}$)及联合治疗组($58.07 \text{ pmol/L} \pm 5.43 \text{ pmol/L}$)血清GLP-2水平显著升高($P < 0.01$); 与模型对照组血清IL-10水平($38.20 \text{ pg/mL} \pm 2.61 \text{ pg/mL}$)相比, SASP组($58.10 \text{ pg/mL} \pm 2.72 \text{ pg/mL}$)及联合治疗组($60.68 \text{ pg/mL} \pm 2.35 \text{ pg/mL}$)血清IL-10水平显著升高($P < 0.01$)。

结论: DPP-4抑制剂通过抗炎和升高血清GLP-2水平, 达到修复结肠炎黏膜损伤的作用, 其抗炎机制与SASP作用机制不同, DPP-4抑制剂与SASP联合用药在治疗小鼠UC方面存在协同作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; DPP-4抑制剂; 葡聚糖硫酸钠; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-10; 胰高血糖素样肽-2

核心提示: 近年来国内外研究表明, 二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4)抑制剂对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型小鼠有明显的治疗作用, 其作用机制是通过提高小鼠血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid-2)水平, 修复肠黏膜病理损伤, 同时显著缓解小鼠结肠局部及全身炎症程度, 其抗炎机制不依赖于白介素-10(interleukin-10), 与柳氮磺吡啶(sulfasalazine)联合应用具有协同作用。

李海素, 杨崇美. 二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3102-3106 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3102.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3102>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性炎症性肠病, 临床以腹痛、腹泻、粘液脓血便为主要表现, 其发病机制尚不完全明确, 目前临床主要用药为5-氨基水杨酸类、糖皮质激素类及免疫抑制剂^[1], 长期应用不良反应大, 患者依从性差, 易复发, 因此开发治疗UC的新药物成为研究热点。二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)抑制剂是治疗2型糖尿病的新型药物^[2], 近年来国内外研究表明其对UC模型小鼠有明显治疗作用^[3-5], 但具体机制不明。本实验利用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)建立小鼠UC模型, 分别给予DPP-4抑制剂(西格列汀)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)及两者联合用药, 观察小鼠结肠髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性, 血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid 2, GLP-2)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)水平变化, 初步探讨DPP-4抑制剂治疗UC的相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级♂ Balb/c小鼠30只, 7-8周龄, 体重21.0-25.5 g, 由山东大学实验动物中心提供。DSS(分子量36000-50000)由美国MP公司生产, 用蒸馏水配成5%浓度溶液备用。捷诺维(磷酸西格列汀片, 100 mg/片)由德国默克公司生产, 用0.5%羧甲基纤维素(CMC)配成相应浓度的混悬液备用。SASP(250 mg/片)由上海三维制药有限公司生产, 用刀片刮去包衣壳, 切碎后用0.5%CMC配成相应浓度的混悬液备用。邻联甲

■ 研发前沿

二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)抑制剂是治疗2型糖尿病的新型药物, 近年来国内外研究表明其对UC模型小鼠有明显治疗作用, 其作用机制不仅是通过抑制DPP-4酶活性, 升高血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid 2, GLP-2)水平, 起到结肠黏膜修复的作用, 还有一定的抗炎机制。

■相关报道

DPP-4抑制剂可显著缓解UC模型小鼠症状,降低疾病活动指数(disease activity index, DAI),增加结肠长度,修复肠黏膜病理损伤,对UC小鼠疗效显著。

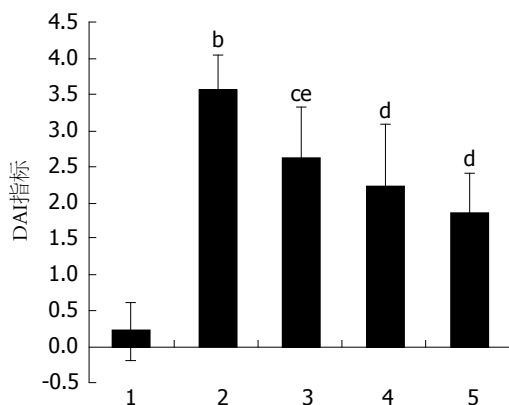


图1 各组小鼠DAI指标。1: 空白对照组; 2: 模型对照组; 3: DPP-4抑制剂组; 4: SASP治疗组; 5: 联合治疗组。^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^c $P<0.05$ vs 模型对照组; ^d $P<0.01$ vs 模型对照组; ^e $P<0.05$ vs 联合治疗组。

苯胺由上海亨新化工试剂厂生产,取1 g邻联甲苯胺溶于冰乙酸及无水乙醇各50 mL的混合液中,置于棕色瓶中,保存于4 °C冰箱备用。MPO试剂盒购自南京建成生物工程研究所; TNF- α 酶联免疫检测(ELISA)试剂盒、IL-10 ELISA试剂盒购自北京达科为生物技术有限公司; GLP-2 ELISA试剂盒购自BIO SWAMP公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及干预: Balb/c小鼠适应性喂养1 wk,按照随机分组原则分为空白对照组、模型对照组、DPP-4抑制剂治疗组、SASP治疗组、DPP-4抑制剂和SASP联合治疗组,每组6只。空白对照组小鼠正常饮水、进食,给予0.5%CMC 0.1 mL灌胃1次/d,连续6 d;其余各组自由饮用5%DSS溶液,模型对照组给予0.5%CMC 0.1 mL灌胃, SASP治疗组每天给予500 mg/kg SASP 0.1 mL灌胃, DPP-4抑制剂治疗组每天给予20 mg/kg 西格列汀0.1 mL灌胃,联合治疗组每天给予500 mg/kg SASP+20 mg/kg西格列汀共0.1 mL灌胃,均1次/d,连续6 d后处死小鼠。

1.2.2 标本采集及DAI评分: 每日观察并记录小鼠的体质量和大便情况,大便隐血检测采用邻联甲苯胺法,疾病活动指数(disease activity index, DAI) = (体质量减轻率分数+粪便性状分数+隐血程度分数)/3。小鼠药物治疗6 d后摘眼球取血,静置30 min后,3000 r/min离心20 min,分离血清,置于-80 °C冰箱待测。处死小鼠,取完整结肠,将结肠纵形剖开,用生理盐水冲洗干净,分为两部分,一部分经4%甲醛固定、石蜡包埋、连续切片,做HE染色观察结肠损伤情况;另一部分置于-80 °C冰箱中备用MPO值的检测。

1.2.3 结肠MPO值及血清TNF- α 、IL-10、GLP-2检测: 结肠MPO值严格按照MPO试剂盒说明书进行检测,血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平检测则利用ELISA法按照试剂盒说明书操作,用酶标仪测定结果,在450 nm处测定A值,转化为浓度。

统计学处理 应用SPSS16.0软件处理实验数据,计量资料以mean \pm SD表示;多组间样本均数比较采用单因素方差分析,符合方差齐性检验,组间两两比较用LSD法;不符合方差齐性检验,组间两两比较用Dunnett's T3法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠DAI评分 比较各组小鼠实验最后1 d DAI评分,与空白对照组相比,模型对照组显著升高($P<0.01$);与模型对照组相比, DPP-4抑制剂组、SASP组及联合治疗组均显著降低(分别 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.01$);与联合治疗组相比, DPP-4抑制剂组显著升高($P<0.05$), SASP组有升高趋势,但差异不显著($P>0.05$)(图1)。

2.2 各组小鼠组织病理学表现 空白对照组小鼠结肠黏膜上皮连续、完整,腺体排列规则,黏膜、固有层、肌层未见明显异常;模型对照组小鼠结肠黏膜充血、水肿,局部黏膜脱落,溃疡形成,偶见隐窝脓肿,大量炎性细胞浸润,严重者侵及肌层及浆膜层;与模型对照组相比,各用药组小鼠结肠炎症均有不同程度的减轻,尤其联合用药组,仅局部可见少量炎性细胞浸润。

2.3 各组小鼠结肠MPO值,血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平 与空白对照组相比,模型对照组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 、IL-10水平显著升高($P<0.01$),血清GLP-2水平有升高趋势,但差异不显著($P>0.05$,表1)。

与模型对照组相比, DPP-4抑制剂组小鼠结肠MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清GLP-2水平显著升高($P<0.01$); SASP组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清IL-10水平显著升高($P<0.01$);联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清IL-10、GLP-2水平显著升高($P<0.01$)。

与DPP-4抑制剂组相比,联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低(分别 $P<0.05$, $P<0.01$),血清IL-10水平显著升高($P<0.01$);与SASP组相比,联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低

表 1 各组小鼠结肠MPO值, 血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平(mean \pm SD)

分组	MPO(U/g)	TNF- α (ng/L)	IL-10(pg/mL)	GLP-2(pmol/L)
空白对照组	0.60 \pm 0.05	35.06 \pm 9.40	21.67 \pm 2.63	29.95 \pm 3.55
模型对照组	1.81 \pm 0.23 ^b	106.86 \pm 17.02 ^b	38.20 \pm 2.61 ^b	33.10 \pm 3.22
DPP-4抑制剂组	1.20 \pm 0.19 ^{de}	81.24 \pm 9.12 ^{df}	39.29 \pm 2.83 ^f	55.07 \pm 4.43 ^d
SASP治疗组	0.96 \pm 0.07 ^{de}	67.86 \pm 9.32 ^{de}	58.10 \pm 2.72 ^d	31.90 \pm 5.09 ^f
联合治疗组	0.81 \pm 0.06 ^d	53.37 \pm 9.08 ^d	60.68 \pm 2.35 ^d	58.07 \pm 5.43 ^d

^b P <0.01 vs 空白对照组; ^d P <0.01 vs 模型对照组; ^e P <0.05 vs 联合治疗组; ^f P <0.01 vs 联合治疗组。

SASP: 柳氮磺吡啶; DPP-4: 二肽基肽酶-4; MPO: 髓过氧化物酶; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-10: 白介素10; GLP-2: 血清胰高血糖素样肽-2。

(P <0.05), 血清GLP-2水平显著升高(P <0.01)。

3 讨论

本实验用5%DSS诱导小鼠UC模型, 模型对照组小鼠DAI指标显著高于正常对照组, 结肠病理组织示黏膜充血水肿, 溃疡形成, 大量炎性细胞浸润, 预示着结肠炎建模成功。与模型对照组相比, 各治疗组DAI指标显著降低, 结肠病理示炎症明显缓解, 尤其联合治疗组小鼠结肠炎症缓解最为明显, 表明DPP-4抑制剂对UC小鼠有较好的治疗效果, 与SASP联合治疗存在协同作用。Ban等^[3]、Yazbeck等^[4,5]分别用不同的DPP-4抑制剂治疗DSS诱导的UC小鼠均得到了与本实验相同的结论, 我国的一项研究, 用阿格列汀治疗三硝基苯磺酸诱导的UC小鼠, 发现小鼠在症状及病理上均得到了显著缓解^[6]。

GLP-2是由33个氨基酸残基组成的单链多肽, 主要由末端回肠和结肠的肠内分泌细胞L细胞合成, 其生理作用主要是刺激隐窝细胞增殖, 抑制黏膜细胞凋亡, 还能抑制胃肠道的运动和分泌, 加快营养转运, 增强肠道对营养物质的吸收能力^[5]。国外研究者发现, 用GLP-2及GLP-2类似物治疗UC模型小鼠疗效显著^[7,8]。GLP-2在肠黏膜组织及血液循环中主要存在形式是有生物活性的GLP-2-(1-33), 还有部分为无生物活性的GLP-2-(3-33), 为DPP-4降解所产生。在UC患者的外周血液循环中检测到, 有活性的GLP-2-(1-33)浓度升高, GLP-2-(1-33)所占GLP-2的比例也较正常人高, 而DPP-4活性则下降^[9]。表明UC患者在肠道损伤后, 可能通过某些机制来维持GLP-2的水平, 以尽可能的修复损伤的肠道上皮。本实验中模型对照组小鼠血清GLP-2水平较空白对照组有升高趋势, 但差异不显著, DPP-4抑制剂组及联合用药组小鼠血清GLP-2水

平显著高于模型对照组, 而SASP组与模型对照组无显著差异, 考虑西格列汀是通过抑制DPP-4酶的活性, 减少对GLP-2的降解, 从而升高血清GLP-2水平, 刺激隐窝细胞增殖, 减少细胞凋亡, 达到黏膜修复的作用。

结肠组织MPO活性, 可反映组织中性粒细胞浸润程度, 是DSS诱导UC模型成功的一个重要指标^[10]。TNF- α 是一种促炎细胞因子, 参与结肠黏膜炎症反应, 诱导上皮细胞凋亡和脱落, 从而增加上皮细胞的通透性, 在UC发病机制中起重要的调节作用^[11]。IL-10是一种抑炎细胞因子, 在IBD患者体内普遍低表达^[12], 研究表明, IL-10可以阻止动物模型肠炎的进展, 对DSS诱导的动物UC具有治疗作用^[13], IL-10^{-/-}小鼠可自发形成以IL-1 β 、IL-6和TNF- α 升高为特点的慢性肠炎^[14,15], 以上均说明IL-10是UC的保护性因素。本试验中, 与模型对照组相比, 各治疗组MPO活性、TNF- α 水平显著降低, 而联合治疗组最为明显, 与单独用药组相比均有显著差异, 预示着DPP-4抑制剂有明显的抗炎作用, SASP与DPP-4抑制剂联合应用在缓解肠道炎症损伤方面存在协同作用。所测血清IL-10水平, 模型对照组较空白对照组显著升高(P <0.01), 考虑DSS诱导小鼠肠道急性炎症, 大量促炎因子释放的同时, 机体进行促炎与抑炎之间的自我平衡调节, 促进相应的抑炎因子释放, 导致模型组小鼠血清IL-10水平高于机体水平。DPP-4抑制剂组小鼠血清IL-10水平与模型对照组相当, SASP组与联合用药组则显著高于模型对照组, 说明SASP治疗UC的抗炎作用与IL-10有关, 而DPP-4抑制剂不能升高UC小鼠体内IL-10水平, 预示着DPP-4抑制剂对UC小鼠的抗炎作用不依赖于IL-10。Ivory等^[16]用GLP-2治疗IL-10^{-/-}所致的小鼠肠炎, 小鼠体内IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子水平及隐窝

■创新盘点

柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)、DPP-4抑制剂均可缓解UC模型小鼠结肠炎症, 但其抗炎机制不同, SASP通过抑制结肠过氧化物酶活性, 抑制前列腺素、白三烯等炎症介质的合成和释放等多种机制达到抗炎作用, 与IL-10密切相关, 而DPP-4抑制剂的抗炎作用不依赖于IL-10。

■同行评价

本文研究结果具有一定的学术意义,具有可读性和科学性。

细胞增殖、凋亡指数均显著降低,间接支持了DPP-4抑制剂抗炎作用不依赖于IL-10的结论。

总之,DPP-4抑制剂可显著缓解UC小鼠症状,降低结肠MPO活性、血清TNF- α 水平,其抗炎机制不依赖于IL-10,同时通过抑制DPP-4酶活性,升高血清GLP-2水平,起到结肠黏膜修复的作用;SASP是治疗UC的传统性药物,通过抑制结肠过氧化物酶活性,抑制前列腺素、白三烯等炎症介质的合成和释放等多种机制达到抗炎、减少肠道黏膜损伤的作用,该研究中SASP显著降低了UC小鼠DAI评分,明显降低了结肠MPO活性、血清TNF- α 水平,升高了血清IL-10水平;联合用药组在缓解结肠炎症、黏膜损伤方面效果最为显著,较单独用药组有显著性差异,说明DPP-4抑制剂与SASP联合用药,可通过不同的机制缓解UC病情,两者存在协同作用。

4 参考文献

- 1 Girardin M, Manz M, Manser C, Biedermann L, Wanner R, Frei P, Safroneeva E, Mottet C, Rogler G, Schoepfer AM. First-line therapies in inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 86 Suppl 1: 6-10 [PMID: 23051720 DOI: 10.1159/000341951]
- 2 曹国颖, 李晓翠, 赵楠, 刘茜, 胡欣. 二肽基肽酶IV抑制剂在治疗2型糖尿病的临床研究进展. *中国新药杂志* 2011; 20: 497-502
- 3 Ban H, Bamba S, Imaeda H, Inatomi O, Kobori A, Sasaki M, Tsujikawa T, Andoh A, Fujiyama Y. The DPP-IV inhibitor ER-319711 has a proliferative effect on the colonic epithelium and a minimal effect in the amelioration of colitis. *Oncol Rep* 2011; 25: 1699-1703 [PMID: 21431278 DOI: 10.3892/or.2011.1223]
- 4 Yazbeck R, Howarth GS, Geier MS, Demuth HU, Abbott CA. Inhibiting dipeptidyl peptidase activity partially ameliorates colitis in mice. *Front Biosci* 2008; 13: 6850-6858 [PMID: 18508699 DOI: 10.2741/3193]
- 5 Yazbeck R, Sulda ML, Howarth GS, Bleich A, Raber K, von Hörsten S, Holst JJ, Abbott CA. Dipeptidyl peptidase expression during experimental colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1340-1351 [PMID: 20186930 DOI: 10.1002/ibd.21241]
- 6 靳迺诗, 董志, 傅洁民, 曾凡新, 姜伦美. 阿格列汀治疗三硝基苯磺酸诱导的溃疡性结肠炎小鼠的实验研究. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1722-1725
- 7 L'Heureux MC, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-2 and common therapeutics in a murine model of ulcerative colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 306: 347-354 [PMID: 12815012 DOI: 10.1124/jpet.103.051771]
- 8 Drucker DJ, Yusta B, Boushey RP, DeForest L, Brubaker PL. Human [Gly2]GLP-2 reduces the severity of colonic injury in a murine model of experimental colitis. *Am J Physiol* 1999; 276: G79-G91 [PMID: 9886982]
- 9 Xiao Q, Boushey RP, Cino M, Drucker DJ, Brubaker PL. Circulating levels of glucagon-like peptide-2 in human subjects with inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1057-R1063 [PMID: 10749795]
- 10 Wan YM, Zhu YQ, Xia B, Luo J. Treating TNBS-induced colitis in rats with probiotics. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 486-493 [PMID: 22234755]
- 11 郑海涵. TNF- α 在IBD发病机制中的调节. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 191-193
- 12 Castro-Santos P, Suarez A, López-Rivas L, Mozo L, Gutierrez C. TNF α and IL-10 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. Association of -1082 AA low producer IL-10 genotype with steroid dependency. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1039-1047 [PMID: 16573780 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00501.x]
- 13 Lindsay JO, Sandison A, Cohen P, Brennan FM, Hodgson HJ. IL-10 gene therapy is therapeutic for dextran sodium sulfate-induced murine colitis. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1327-1334 [PMID: 15387364]
- 14 Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274 [PMID: 8402911 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80068-P]
- 15 Scheinin T, Butler DM, Salway F, Scallan B, Feldmann M. Validation of the interleukin-10 knockout mouse model of colitis: antitumour necrosis factor-antibodies suppress the progression of colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 38-43 [PMID: 12823276 DOI: 10.1046/j.1365-2249.2003.02193.x]
- 16 Ivory CP, Wallace LE, McCafferty DM, Sigalet DL. Interleukin-10-independent anti-inflammatory actions of glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1202-G1210 [PMID: 18845573 DOI: 10.1152/ajpgi.90494.2008]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效

潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花

潘瑞艳, 韩海林, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花, 潍坊医学院药理学与生物科学学院药理学教研室 山东省潍坊市 261053
严庆涛, 潍坊市人民医院小儿外科 山东省潍坊市 261041
曲俊生, 潍坊医学院附属医院内分泌科 山东省潍坊市 261041
徐继马, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261041
潘瑞艳, 在读研究生, 主要从事神经内分泌药理学研究。
国家教育部留学回国人员科研启动基金资助项目, No. 2011年第43批
中科院核分析技术重点实验室基金资助项目, No. K1302
山东省自然科学基金资助项目, Nos. ZR2009DM024;
ZR2011HM043; ZR2009CL047
山东省高等学校科技计划基金资助项目, No. J11LF33
作者贡献分布: 潘瑞艳与严庆涛对此文贡献均等; 此课题由严庆涛与曲梅花设计; 研究过程由潘瑞艳、严庆涛、曲俊生、韩海林、徐继马、薛玲喜及张义军操作完成; 数据分析由曲俊生完成; 本论文写作由潘瑞艳、严庆涛及曲梅花完成; 研究经费由曲梅花与严庆涛提供。
通讯作者: 曲梅花, 教授, 261053, 山东省潍坊市宝通西街7166号, 潍坊医学院药理学与生物科学学院药理学教研室。
qumeihua@hotmail.com
电话: 0536-8462466
收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-07-29
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats

Rui-Yan Pan, Qing-Tao Yan, Jun-Sheng Qu, Hai-Lin Han, Ji-Ma Xu, Ling-Xi Xue, Yi-Jun Zhang, Mei-Hua Qu

Rui-Yan Pan, Hai-Lin Han, Ling-Xi Xue, Yi-Jun Zhang, Mei-Hua Qu, Department of Pharmacology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China
Qing-Tao Yan, Department of Pediatric Surgery, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong Province, China
Jun-Sheng Qu, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261041, Shandong Province, China
Ji-Ma Xu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261041, Shandong Province, China
Supported by: the Scientific Research Foundation for Returned Scholars, Ministry of Education of China, No. 2011, 43th; the Fund of Key Laboratory of Nuclear Analysis Techniques of Chinese Academy of Sciences, No. K1302; the Natural Science Foundation of Shandong Province, Nos.

ZR2009DM024, ZR2011HM043, and ZR2009CL047; the Higher Educational Science and Technology Program of Shandong Province, No. J11LF33
Correspondence to: Mei-Hua Qu, Professor, Department of Pharmacology, Shandong Key Laboratory of Applied Pharmacology, Pharmaceutical and Biological Sciences College, Weifang Medical University, 7166 Baotong West Street, Weifang 261053, Shandong Province, China. qumeihua@hotmail.com
Received: 2013-07-17 Revised: 2013-07-29
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap in preventing anastomotic leakage in diabetic rats.

METHODS: Experiments were performed using 6-week-old male Wistar rats ($n = 30$). All animals were allowed to adapt to their environment for 1 wk (free access to food and water, 12:12-h light/dark cycle) prior to the beginning of study. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) was induced by feeding a high-fat diet for two months and then giving a single intraperitoneal injection of low-dose 1% streptozocin (35 mg/kg) after 12 h of fasting. Seven days after model induction, the rats were divided into either a control group to receive a surgery without wrapping anastomotic fistula ($n = 11$) or an experimental group to receive wrapping anastomotic fistula using a pedicled gastrocolic omentum flap ($n = 13$).

RESULTS: The incidence of anastomotic leakage was significantly lower in the experimental group than in the control group (3.8% vs 31.8%, $P = 0.029$). The survival rate was also improved in the experimental group.

CONCLUSION: Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap is feasible in preventing anastomotic leakage and can significantly decrease the incidence of anastomotic leakage and improve survival in diabetic rats.

■背景资料

近年来随着胃肠手术治疗糖尿病病的深入研究, 患者术后并发症的防治亦显得尤为重要。吻合口漏是糖尿病患者胃肠手术后严重并发症之一, 本研究通过动物实验的方法, 探讨大网膜包绕消化道吻合口预防胃肠手术后吻合口漏的方法可行有效。

■同行评议者

于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

■ 研发前沿

有研究表明十二指肠空肠旁路术(duodenal-jejunal bypass, DJB)手术可显著降低糖尿病患者的血糖,使糖尿病症状缓解,但具体作用机制尚不明确。本研究大网膜瓣包绕消化道吻合口可显著降低糖尿病大鼠吻合口瘘的发生率,提高糖尿病大鼠存活率,为成功建立胃肠手术模型、探讨DJB术治疗糖尿病的机制奠定基础。

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Digestive tract anastomotic fistula; Diabetic rats; Anastomotic leakage; Pedicled gastrocolic omentum flap

Pan RY, Yan QT, Qu JS, Han HL, Xu JM, Xue LX, Zhang YJ, Qu MH. Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3107-3111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3107>

摘要

目的: 探讨大网膜瓣包绕消化系吻合口在防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效。

方法: δ Wistar大鼠30只,适应饲养环境1 wk,采用高糖高脂饮食喂养2 mo后联合腹腔注射小剂量链脲佐菌素(35 mg/kg)制备2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠模型,模型稳定7 d后分两组进行胃肠道手术,对照组(大网膜未包绕吻合口残端, $n = 11$)和实验组(大网膜包绕吻合口, $n = 13$)。

结果: 对照组吻合口漏发生率为27.3%,实验组吻合口漏发生率为3.8%,与对照组相比明显降低($P = 0.029$),大鼠存活率显著提高。

结论: 大网膜瓣包绕吻合口预防胃肠道手术后吻合口漏是可行的,采用大网膜瓣包绕吻合口可显著降低糖尿病大鼠胃肠道手术吻合口漏的发生,提高大鼠存活率。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道吻合; 糖尿病大鼠; 吻合口漏; 大网膜瓣

核心提示: 本研究拟采用DJB手术干预2型糖尿病大鼠模型,探讨术中大网膜瓣包绕消化系吻合口在降低糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效,结果表明糖尿病大鼠胃肠手术中采用大网膜瓣包绕吻合口,可大大降低胃肠道吻合口漏的发生率,提高患鼠的存活率,且该手术方法简单,安全,易于操作。

潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花. 大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3107-3111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3107>

0 引言

糖尿病、营养不良、肠道的慢性炎症、血运障碍、长期激素应用、老年患者、手术粗糙通常是诱发胃肠道手术后吻合口漏的主要原因,大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一。在此我们通过动物实验的方法,对该手术方法在预防糖尿病大鼠胃肠道手术后吻合口漏的疗效进行了对比性研究,以确定该手术方法的有效性和安全性。本实验拟选择对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠进行十二指肠空肠旁路手术(duodenal-jejunal bypass, DJB)手术,图1A)进行观察,探讨术中行大网膜包绕吻合口的方式在降低吻合口漏发生率的疗效,进而达到提高手术后糖尿病大鼠存活率的目的,亦为在糖尿病患者胃肠道手术中应用该方法提供动物实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康 δ Wistar大鼠30只,体质量180-200g, SPF级,购自山东鲁抗医药股份有限公司实验动物室(许可证号: SCXK鲁20130001)。链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ): Sigma公司;血糖试纸: 北京怡成生物电子有限公司;柠檬酸和柠檬酸钠: Solarbio公司;手术器械及场所由潍坊医学院药理学实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 T2DM大鼠模型建立: 采用高糖高脂饮食喂养联合小剂量链脲佐菌素腹腔注射^[1-4]建立2型糖尿病大鼠模型。第一阶段高糖高脂饲料喂养: Wistar大鼠普食喂养1 mo后,给予高糖高脂饲料(配方为基础饲料57%、猪油30%、蔗糖10%、蛋黄3%)喂养8 mo;第二阶段小剂量STZ腹腔注射: 上述高糖高脂饲料喂养大鼠禁食12 h,给予腹腔注射35 mg/kg STZ(STZ溶解在pH 4.2的0.1 mol/L柠檬酸缓冲液内,配制成1%的溶液,避光冰浴即用),注射72 h后,尾尖采血并用北京怡成生物技术有限公司5D-1型血糖仪测空腹血糖,以空腹血糖 ≥ 13.9 mmol/L且稳定7 d以上为T2DM大鼠造模成功。T2DM模型大鼠随机分为DJB手术对照组和实验组,其中对照组11只,实验组13只。

1.2.2 手术操作: T2DM大鼠术前禁饮食12 h。给予氯胺酮3 mL(150mg)/kg腹腔注射麻醉糖尿病大鼠。待角膜反射、翻正反射消失、夹尾无体动反应作为大鼠麻醉成功的标准。皮下注射生理盐水

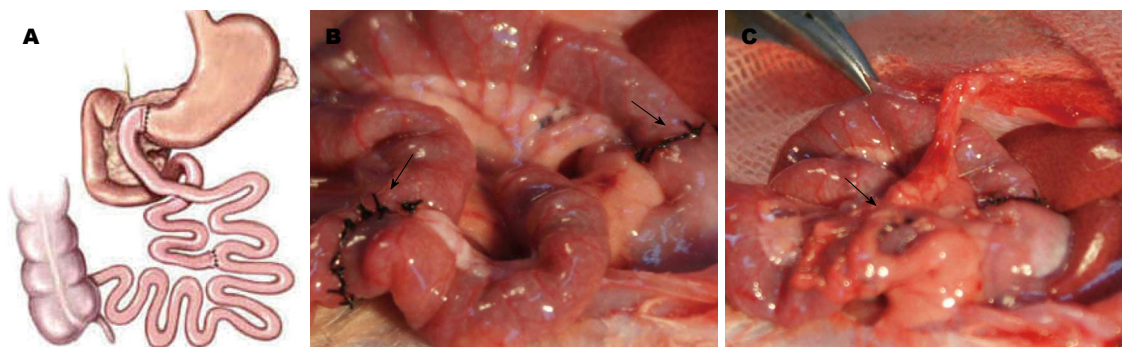


图1 DJB模式及手术吻合口缝合图. A: DJB手术模式图; B: 吻合口间断全层内翻缝合外加间断浆肌层缝合, 大网膜瓣未包绕吻合口, 左侧箭头示空肠端侧吻合口, 右侧箭头示胃空肠吻合口; C: 吻合口间断全层内翻缝合外加间断浆肌层缝合后, 大网膜瓣包绕吻合口, 箭头示大网膜瓣包绕吻合口. DJB: 十二指肠空肠旁路手术.

■相关报道

吻合口漏是胃肠手术后并发症之一, 许多文献报道大网膜瓣包绕消化道吻合口对于防治消化道吻合口漏具有良好的效果, 可显著降低患者围手术期的死亡率.

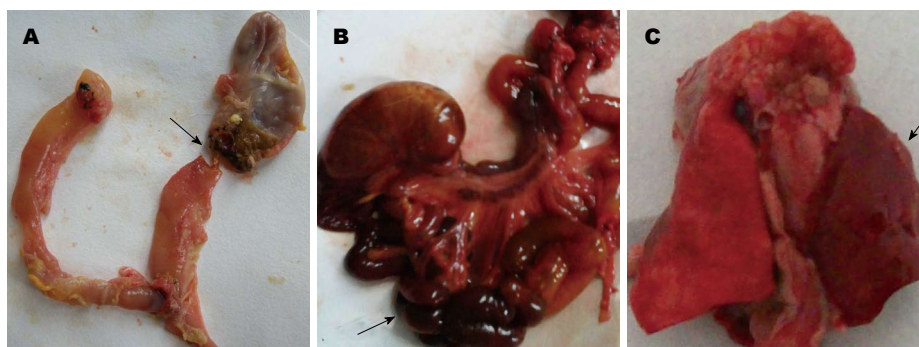


图2 大鼠吻合口漏、肠管坏死、肺部感染. A: 胃空肠吻合口漏, 箭头示发生吻合口漏的吻合口; B: 肠管坏死, 箭头示坏死肠段; C: 肺部感染, 箭头示病变肺叶.

各10 mL, 备皮, 750 mL/L乙醇消毒, 铺无菌洞巾, 腹部正中切口, 长约3 cm, 逐层切开皮肤及腹壁肌层, 入腹腔. 于幽门处切断十二指肠, 6-0丝线间断浆肌层内翻缝合封闭十二指肠残端. 屈氏韧带下8 cm处切断空肠, 远端空肠与胃幽门部行端-端吻合(图1B), 6-0丝线间断全层内翻缝合, 外加间断浆肌层缝合; 近端空肠与胃空肠吻合口下约8 cm处空肠行端-侧吻合, 吻合方法同前(图1B); 制作大网膜瓣包绕上述2个吻合口, 6-0丝线将大网膜瓣与吻合口周围胃肠道浆肌层间断缝合妥善固定使大网膜瓣充分包绕吻合口(图1C), 温盐水冲洗腹腔后逐层关闭腹. 对照组大鼠: 胃肠道吻合术后不做大网膜瓣包绕吻合口. 实验组大鼠: 胃肠道吻合术后做大网膜瓣包绕吻合口. 整个手术过程时间约90 min, 术后补液, 2-3 d后进食流质饮食, 并逐渐过渡到正常饮食; 肌注青霉素5万IU, 持续3 d; 腹部切口用碘伏消毒, 持续1 wk, 如有死亡需对死亡大鼠进行解剖处理, 查明死亡原因.

统计学处理 实验数据采用SPSS11.0软件进行统计分析, 数据用mean±SD表示. 术前空腹血

糖浓度比较采用两样本均数 t 检验, 吻合口漏发生率和实验鼠死亡率均采用Fisher确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

本实验中实验组和对照组大鼠均为糖尿病鼠, 二者空腹血糖比较差异无统计学意义(表1), 其中对照组大鼠总例数为11只, DJB手术后, 成活3只, 6个吻合口漏, 发生率为27.3%, 发生时间为术后3-7 d. 实验组大鼠总例数为11只, 成活8只, 吻合口均行大网膜包绕, 1个吻合口漏, 吻合口发生率为3.8%, 发生率大大降低, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$). 对照组大鼠死亡率为72.7%, 其中6只死于吻合口漏, 吻合口漏死亡率为100%, 解剖死亡大鼠可见患鼠腹腔积液, 肠管粘连, 吻合口裂开(图2A); 1只死于肠管坏死(图2B), 另1只术后死亡原因不明. 实验组大鼠死亡率为30.8%, 1只仍死于吻合口漏, 吻合口死亡率100%, 2只死于肺部感染(图2C), 1只为大鼠肠管坏死所致(图2B), 实验组和对照组大鼠死亡率无显著性差异, 分析原因可能为糖尿病大鼠术

■创新盘点

大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一,但糖尿病患者由于存在高血糖,大大增加了吻合口漏的发生率,本研究结果表明采用,大网膜瓣包绕吻合口防止糖尿病鼠消化道吻合口漏的方法是安全有效的。

表 1 两组大鼠吻合口漏情况

分组	n	术前空腹血糖浓度(mmol/L)	吻合口数量	吻合口漏数量	实验鼠死亡例数	吻合口漏发生率(%)	实验鼠死亡率(%)
实验组	13	21.2 ± 2.9	26	1	4	3.8	30.8
对照组	11	19.9 ± 2.68	22	6	8	27.3	72.7
P值		>0.05				<0.05	>0.05

后致死性并发症较多,如术后肠吻合口漏,肺部感染,肠坏死,腹腔感染,水电解质紊乱,酮症酸中毒等,肠吻合口漏只是其致死性并发症之一。另一方面可能与样本例数较少有关。

3 讨论

吻合口漏是胃肠手术严重的并发症之一^[5],临床上胃肠吻合口漏发生的原因较多,一般认为与年龄、性别、患者全身状况、胃肠局部血运、吻合术式、手术者操作技术、术后消化系有无梗阻、呕吐、腹腔感染,合并其他疾病如糖尿病等因素有关^[6]。健康非糖尿病患者胃肠手术后吻合口漏的发生率极低,一旦发生可通过再次手术,或通过局部充分引流,全身营养支持及抗感染等对症处理方法进行治疗,大部分吻合口漏可治愈^[7]。然而,对于存在糖尿病或其他胃肠道疾患的患者,一旦发生吻合口漏等并发症,其死亡率会显著提高^[8],本实验糖尿病大鼠发生吻合口漏后,死亡率为100%,因此预防这一部分患者胃肠道手术后的吻合口漏的发生具有重要的现实意义。大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一^[9-13],但该手术方法在预防糖尿病患者胃肠道手术后吻合口漏疗效尚缺乏动物实验方面的系统研究,在此我们通过动物实验的方法,对该手术方法在预防糖尿病大鼠胃肠道手术后吻合口漏的疗效进行了对比性研究,以确定该手术方法的有效性。本实验通过对T2DM大鼠行DJB手术^[14,15]进行观察,探讨术中行大网膜包绕吻合口的方式在降低吻合口漏发生率的功效,进而达到提高手术后糖尿病大鼠存活率的目的,亦为在人糖尿病患者和存在其他易发生吻合口漏因素的胃肠道手术中应用该方法提供动物实验依据。

大网膜有丰富的血管和淋巴管网络,具有很强的吸收、黏附、防御、修复、抗感染等功能,大网膜包绕吻合口不仅能在吻合口周围形成袖套式的保护层^[16],还能粘连吻合口和邻近的组织,防止消化液的外漏;大网膜在术后4 d便能与

覆盖区发生血管沟通^[12],与吻合口周围组织形成广泛侧支循环,增加血液供应,增强吻合口的愈合能力^[11,13];同时,大网膜还能预防周围组织纤维化所致梗阻等优点,因此大网膜覆盖吻合口,既增强了吻合口的牢固性,又可在第一时间封堵可能发生的吻合口漏。

糖尿病大鼠吻合口漏的原因归纳起来主要有以下几个方面:(1)糖尿病患者由于存在高血糖,组织细胞活性低,体内胶原蛋白合成减少,组织愈合能力差;(2)高血糖抑制巨噬细胞趋化吞噬和杀菌等功能,降低单核细胞活力,细胞免疫和体液免疫能力下降,抗感染能力差^[17],易发生吻合口、腹腔、胃肠道感染;(3)糖尿病致胃肠道血运障碍,影响吻合口局部愈合及抗感染能力;(4)糖尿病大鼠胃肠蠕动功能差,增加吻合口漏的风险。

本实验中对照组大鼠行DJB术后吻合口漏发生率为27.3%,其中有6个吻合口发生漏,观察术后大鼠,可见精神萎靡,活动性差,腹部膨隆,触其腹壁,有躲避现象;实验组我们应用大网膜瓣环包胃结肠吻合口13例,虽有1个吻合口漏,分析原因可能为术前禁食禁水不充分导致食物过多积聚在胃肠道,增加术中术后吻合口及腹腔感染的机会及术后过早饮食,加重胃肠蠕动负担,增加吻合口张力,但发生率大大降低,仅占3.8%,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果显示,糖尿病大鼠胃肠手术中采用大网膜瓣包绕吻合口,可大大降低胃肠道吻合口漏的发生率,提高患鼠的存活率,将大网膜瓣包绕胃结肠吻合口区增加了吻合口的严密性和稳固性,提供了较为安全的防御屏障,我们认为将大网膜瓣包绕消化系吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的方法是有效的。

总之,大网膜瓣包绕胃结肠吻合口可显著降低糖尿病大鼠胃肠手术吻合口漏的发生,可作为糖尿病大鼠胃肠手术的常规术式。同时我们的研究间接证明,对存在易发生胃肠吻合口漏因素的人类胃肠道吻合手术中,该手术方法可能

有效且该手术方法简单, 安全, 易于操作, 未见明显增加吻合口梗阻的情况。

4 参考文献

- 1 Strader AD, Clausen TR, Goodin SZ, Wendt D. Ileal interposition improves glucose tolerance in low dose streptozotocin-treated diabetic and euglycemic rats. *Obes Surg* 2009; 19: 96-104 [PMID: 18989728 DOI: 10.1007/s11695-008-9754-x]
- 2 Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 2000; 49: 1390-1394 [PMID: 11092499 DOI: 10.1053/meta.2000.17721]
- 3 Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 704045 [PMID: 19132099 DOI: 10.1155/2008/704045]
- 4 张妍, 毕会民, 甘佩珍. 葛根素对胰岛素抵抗大鼠骨骼肌中蛋白激酶B表达的影响. *中国药理学通报* 2004; 20: 307-10
- 5 Caulfield H, Hyman NH. Anastomotic leak after low anterior resection: a spectrum of clinical entities. *JAMA Surg* 2013; 148: 177-182 [PMID: 23426596 DOI: 10.1001/jamasurgery.2013.413]
- 6 高云峰, 董明. 直肠癌前切除术吻合口漏的危险因素. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 803-807
- 7 Daams F, Luyer M, Lange JF. Colorectal anastomotic leakage: aspects of prevention, detection and treatment. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2293-2297 [PMID: 23613621 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2293]
- 8 Ziegler MA, Catto JA, Riggs TW, Gates ER, Grodsky MB, Wasvary HJ. Risk factors for anastomotic leak and mortality in diabetic patients undergoing colectomy: analysis from a statewide surgical quality collaborative. *Arch Surg* 2012; 147: 600-605 [PMID: 22430091 DOI: 10.1001/archsurg.2012.77]
- 9 Hao XY, Yang KH, Guo TK, Ma B, Tian JH, Li HL. Omentoplasty in the prevention of anastomotic leakage after colorectal resection: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 1159-1165 [PMID: 18762955 DOI: 10.1007/s00384-008-0532-y]
- 10 Saber AA, Jackson O. Omental wrap: a simple technique for reinforcement of the gastrojejunostomy during Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2007; 17: 15-18 [PMID: 17355763 DOI: 10.1007/s11695-007-9000-y]
- 11 王江波, 梁浩, 程远方, 王相臣, 陈晶. 食管癌贲门癌切除大网膜包埋吻合口预防吻合口漏的术式研究. *中国现代药物应用* 2012; 6: 33-34
- 12 邓权每. 大网膜治疗主动脉裂口感染的实验研究. *中华实验外科杂志* 1987; 4: 36
- 13 Adams W, Ctercteko G, Bilous M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 1992; 35: 731-738 [PMID: 1379531]
- 14 JiMa Xu, ChunYan Fang, TingTun Zhao, XiuRong Zhang, Mei-Hua Qu. The Study of GLP-1R expression in enteric nerve system of type 2 diabetic rat after duodenal-jejunal bypass surgery. *Neurogastroenterology and Motility* 2012; 24 Suppl 2: 132-133
- 15 张秀荣, 徐继马, 严庆涛, 季万胜, 房春燕, 王琳, 赵廷坤, 高志芹, 曲梅花. DJB术对2型糖尿病大鼠肠神经GLP-1受体表达影响的研究. *山东大学学报(医学版)* 2012; 50: 1-5
- 16 Samson R, Pasternak BM. Current status of surgery of the omentum. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 149: 437-442 [PMID: 382412]
- 17 胡绍文, 郭瑞林. 实用糖尿病学. 北京: 人民军医出版社, 1998: 329-334

同行评价

本文的科学性、创新性和可读性均较好, 实验设计合理可靠, 实验证据充足, 结论较明确, 为大网膜瓣包绕消化系吻合口防治糖尿病患者消化系吻合口漏提供了实验依据, 具有较好的临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧

■背景资料

MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白作为黏蛋白家族的重要成员与胃癌的相关性日益受到关注, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)作为胃癌的I类致病原与胃癌的发展关系密切, 本研究旨在揭示MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白在不同类型胃黏膜的表达以及与*H. pylori*的关系。

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科 山东省青岛市 266071

崔小强, 在读硕士, 主要从事胃癌发生机制的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由董全江、解祥军及战淑慧共同设计; 研究过程与数据分析由崔小强与姜曼操作完成; 本论文的初稿写作、修改及定稿由崔小强、姜曼、董全江、高玉强、解祥军及战淑慧共同完成。

通讯作者: 战淑慧, 教授, 266071, 山东省青岛市胶州路1号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科, zhandoctor@126.com
电话: 0532-82789579

收稿日期: 2013-07-08 修回日期: 2013-08-08

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions

Xiao-Qiang Cui, Man Jiang, Quan-Jiang Dong, Yu-Qiang Gao, Xiang-Jun Xie, Shu-Hui Zhan

Xiao-Qiang Cui, Man Jiang, Quan-Jiang Dong, Yu-Qiang Gao, Xiang-Jun Xie, Shu-Hui Zhan, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Shu-Hui Zhan, Professor, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 1 Jiaozhou Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. zhandoctor@126.com

Received: 2013-07-08 Revised: 2013-08-08

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To detect the expression of mucin-1 and mucin-2 in gastritis, intestinal metaplasia and gastric cancer.

METHODS: Thirty patients with gastritis (without intestinal metaplasia), thirty patients with intestinal metaplasia and forty-eight patients with gastric cancer, who were treated at our hospital from November 2011 to April 2012, were enrolled in this study. The expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions was determined by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression of mucin-1 in intestinal metaplasia was lower than that in gastritis ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in intestinal metaplasia was higher than that in gastritis (P

< 0.05). The rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in intestinal metaplasia was higher than that in gastritis ($P > 0.05$). The expression of mucin-1 in gastric cancer was higher than that in intestinal metaplasia ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in gastric cancer was lower than that in intestinal metaplasia ($P < 0.05$). The rate of *H. pylori* infection in gastric cancer was lower than that in intestinal metaplasia ($P < 0.05$). The expression of mucin-1 in gastric cancer was lower than that in gastritis ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in gastric cancer was higher than that in gastritis ($P < 0.05$). The rate of *H. pylori* infection in gastric cancer was lower than that in gastritis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The expression of mucin-1 is down-regulated in the evolution of gastric cancer; however, the expression of mucin-2 is positive only in precancerous lesions and gastric cancer. This finding suggests that mucin-2 may be more closely related to the occurrence of gastric cancer. There is a negative correlation between expression of mucin-1 and *H. pylori* infection, but a positive correlation between mucin-2 expression and *H. pylori* infection.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mucin-1; Mucin-2; Gastric neoplasms; *Helicobacter pylori*

Cui XQ, Jiang M, Dong QJ, Gao YQ, Xie XJ, Zhan SH. Expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3112-3118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3112>

摘要

目的: 探讨MUC1黏蛋白、MUC2黏蛋白在不同类型胃黏膜中的表达。

方法: 随机选取2011-11/2012-04就诊于青岛市市立医院病理诊断为慢性浅表性胃炎(不伴有肠化生)的患者30例、肠上皮化生患者30例,

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

胃癌患者48例, 用免疫组织化学的方法检测胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达。

结果: (1)肠上皮化生组患者与慢性浅表性胃炎组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率上升($P<0.05$), 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率升高($P>0.05$); (2)胃癌组患者与肠上皮化生组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率下降($P<0.05$), *H. pylori*感染率下降($P<0.05$); (3)胃癌组患者与慢性浅表性胃炎组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率上升($P<0.05$), *H. pylori*感染率下降($P>0.05$)。

结论: 在胃黏膜癌变过程中MUC1黏蛋白表达下调, MUC2黏蛋白仅在肠上皮化生胃黏膜及胃癌中呈阳性表达, 这种现象的发生可能与胃癌的发生有关。 *H. pylori*感染能导致胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率下降, MUC1黏蛋白可能有抗*H. pylori*感染的作用, *H. pylori*感染与MUC2黏蛋白的相关性需要进一步探讨。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: MUC1黏蛋白; MUC2黏蛋白; 胃癌; 幽门螺杆菌

核心提示: 与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阴性患者相比*H. pylori*阳性患者胃黏膜MUC1黏蛋白表达阳性率降低, 提示*H. pylori*可能影响MUC1黏蛋白的表达; MUC2黏蛋白全部在杯状细胞表达, 在胃癌组织中表达阳性率降低, 提示MUC2黏蛋白可能与胃癌的发展有关, 他与*H. pylori*的相关性需要研究进一步的证实。

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧. 不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3112-3118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3112>

0 引言

黏蛋白是高分子量糖蛋白, 分为膜结合型和分泌型两种形式, 具有多种功能, 如水化、保护、润滑人体内各种管腔的上皮细胞, 调控细胞信号传导及转录等^[1-3]. 胃癌在我国的恶性肿瘤发病率和死亡率分别为第2、3位, 在世界上, 胃癌

在美国的发病率为第7位, 是威胁人类健康常见的癌症之一^[4]. 超过90%以上的胃癌是腺癌, 腺癌分为弥漫型胃癌和肠型胃癌^[5], 在肠型胃癌的发展过程中, 胃黏膜上皮经历了一系列的病理阶段, 包括慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异性增生、胃癌^[6]. 正常胃黏膜可表达MUC1、MUC5AC、MUC6黏蛋白^[7-9], MUC2黏蛋白是一种分泌型黏蛋白, 正常胃黏膜不表达^[9,10]. 本实验通过免疫组织化学方法检测不同胃黏膜病变组织MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达情况, 并对他们与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的相关性作初步探讨, 旨在为胃癌的诊断、预防和治疗提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取青岛市市立医院病理科2011-11/2012-04诊断为慢性浅表性胃炎(不伴有肠化生)的胃黏膜标本30例, 肠化生胃黏膜标本30例, 胃癌手术标本48例. 标本的获取已通过当地医院的伦理批准或通过患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用免疫组织化学SP法(streptavidin-peroxidase法, 即链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法), MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的一抗稀释溶度均为1:100. 主要试剂: 鼠抗人MUC1黏蛋白单克隆抗体浓缩液、鼠抗人MUC2黏蛋白单克隆抗体浓缩液, 均购自北京中杉金桥生物技术公司, 兔抗鼠快捷型酶标抗体、柠檬酸抗原修复液(pH 6.0)及DAB显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司. 所有标本均经过10%中性甲醛溶液固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 2 μm厚连续切片, 免疫组织化学染色. 免疫组织化学染色步骤包括: 常规脱蜡脱水, 清水冲洗, 过氧化氢孵育10 min清除内源性过氧化物酶, 抗原热修复, 滴加一抗, 37℃孵育1 h, 滴加二抗, 常温下孵育10 min, DAB显色3-5 min, 苏木素复染, 二甲苯透明, 中性树胶封片. 实验中设立阴性对照和阳性对照, 以确保实验的特异性和可靠性. 所有的胃组织标本通过HE染色确定*H. pylori*阳性。

1.2.2 判定标准: 在光学显微镜下观察全片, 对切片染色阳性情况进行评估. 阳性细胞的判定标准: MUC1黏蛋白、MUC2黏蛋白阳性着色位于细胞浆, 着色呈棕黄或棕褐色颗粒, 细胞核不着色. 根据染色程度计分, 其中无色为0分, 浅黄

■ 研发前沿

目前关于MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白与胃癌的关系的报道已有较多, 然而他们与胃癌发生的机制的相关性尚不清楚. MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白是否参与了胃癌的发展、*H. pylori*感染机制以及他们与*H. pylori*的相关性仍需进一步探讨。

■相关报道

Radziejewska等通过研究发现根治胃炎患者*H. pylori*感染后胃液中MUC1黏蛋白的含量会升高; Michaël Perrais等通过研究发现*H. pylori*的尿素酶、鞭毛蛋白及毒力因子CagA可以影响MUC2基因转录,提示MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白参与了*H. pylori*感染机制。

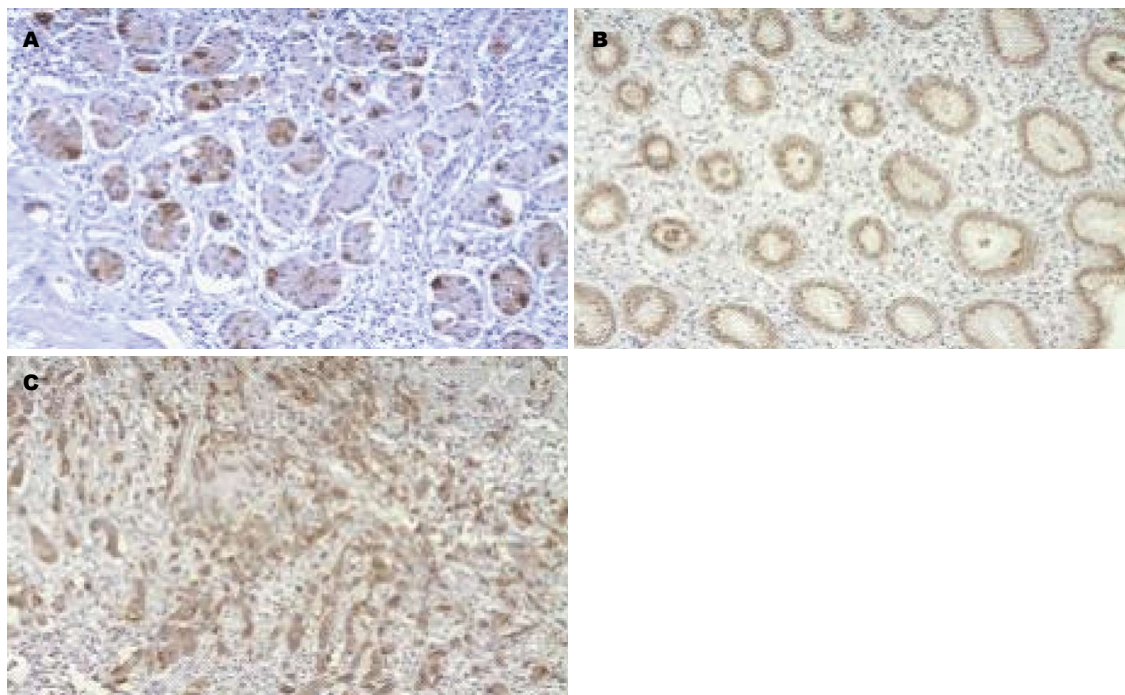


图1 MUC1黏蛋白的表达(SP × 100). A: 慢性浅表性胃炎; B: 肠化生; C: 胃癌中的表达。

表1 MUC1黏蛋白在不同胃黏膜组织中的表达

组织类型	n	MUC1黏蛋白				阳性	阴性	阳性率(%)	χ^2 值	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)					
慢性浅表性胃炎	30	0	2	8	20	2	28	93.33	0.185 ^a	0.667 ^a
肠上皮化生	30	0	4	9	17	4	26	86.67	0.288 ^c	0.592 ^c
胃癌	48	4	6	29	9	10	38	79.17	1.862 ^b	0.172 ^b

^a $P < 0.05$ vs 肠化生组; ^b $P < 0.05$ vs 胃癌组; ^c $P < 0.05$ vs 慢性胃炎组。

色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。根据阳性细胞数计分, 阳性细胞数 $<10\%$ 为0分, $10\%-30\%$ 为1分, $31\%-50\%$ 为2分, $>50\%$ 为3分。染色程度计分与阳性细胞数计分相乘, 0分记为-, 1-3分记为+(弱阳性), 4-5分记为++(阳性), ≥ 6 分记为+++ (强阳性), 将弱阳性与阴性归为阴性, 将阳性与强阳性归为阳性。

统计学处理 数据经SPSS17.0软件进行统计学处理, MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白阳性表达的比较分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性浅表性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组间MUC1黏蛋白表达阳性率的比较 30例慢性浅表性胃炎胃黏膜中MUC1黏蛋白表达阳性率为93.33%, 表达于黏膜固有层腺体, 30例肠化生

胃黏膜中MUC1黏蛋白表达阳性率为86.67%, 表达于黏膜固有层腺体, 48例胃癌组织中MUC1黏蛋白表达阳性率为79.17%, 表达于腺体腔缘、胃癌细胞浆。慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组MUC1黏蛋白表达阳性率逐渐下降, 但三者间两两比较差异均无统计学意义(图1, 表1)。

2.2 慢性浅表性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组间MUC2黏蛋白表达阳性率的比较 MUC2黏蛋白在30例慢性浅表性胃炎组织中不表达, 在30例肠化生胃黏膜中表达阳性率为93.33%, 表达于杯状细胞胞浆内, 48例胃癌组织中MUC2黏蛋白表达阳性率为31.25%, 表达于癌细胞胞浆内, 呈弥漫性分布, 细胞核内不表达。肠上皮化生组和慢性浅表性胃炎组相比MUC2黏蛋白表达阳性率明显上升($P < 0.05$), 胃癌组较肠上皮化生组相比MUC2黏蛋白表达阳性率明显下降($P < 0.05$), 胃癌组较慢性浅表性胃炎组相比较阳

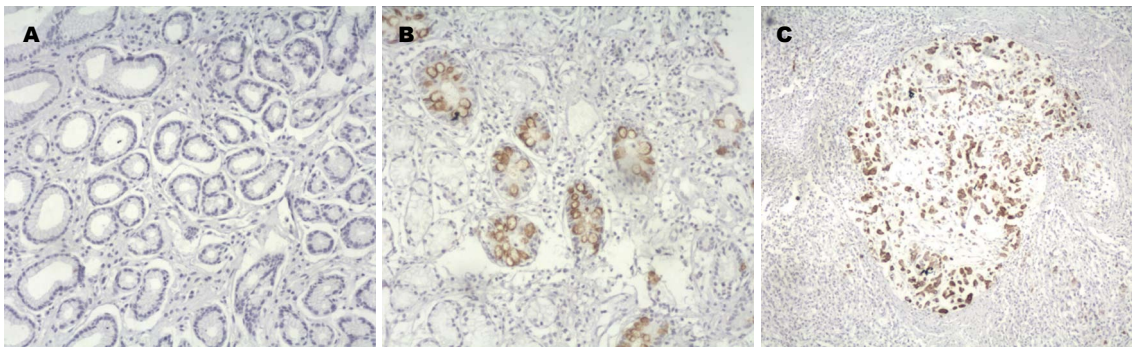


图 2 MUC2黏蛋白的表达(SP × 100). A: 慢性浅表性胃炎; B: 肠化生; C: 胃癌中的表达.

表 2 MUC2黏蛋白在不同胃黏膜胃组织中的表达

组织类型	n	MUC2黏蛋白				阴性	阳性	阳性率(%)	χ^2 值	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)					
慢性浅表性胃炎	30	30	0	0	0	30	0	0 ^a	39.497	0.00
肠上皮化生	30	0	5	5	20	5	25	83.33 ^c	20.045	0.00
胃癌	48	33	0	9	6	33	15	31.25 ^e	9.682	0.002

^a $P<0.05$ vs 肠化生组; ^c $P<0.05$ vs 胃癌组; ^e $P<0.05$ vs 慢性胃炎组.

表 3 各组间*H. pylori*的感染率及*H. pylori*对胃黏膜MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白表达的影响

分组	n	<i>H. pylori</i>	n	MUC-1		P值	MUC-2		P值	MUC-1 阳性率(%)	MUC-2 阳性率(%)	<i>H. pylori</i> 感染率(%)	P值
				(+)	(-)		(+)	(-)					
慢性浅表性胃炎	30	阳性	12	10	2	0.296	0	12		83.33	0.0	40	0.071 ^a
		阴性	18	18	0		0	18		100.0	0.0		
肠上皮化生	30	阳性	19	17	2	0.970	16	3	1.00	89.47	84.21	63.33	0.026 ^c
		阴性	11	9	2		9	2		100.0	81.82		
胃癌	48	阳性	18	12	6	0.199	2	16	0.44	66.67	11.11	37.5	0.825 ^e
		阴性	30	26	4		13	17		86.67	43.33		

^a $P<0.05$ vs 肠化生组; ^c $P<0.05$ vs 胃癌组; ^e $P<0.05$ vs 慢性胃炎组.

性率明显上升($P<0.05$)(图2, 表2).

2.3 各组间*H. pylori*感染率的比较 慢性浅表性胃炎组*H. pylori*感染率为40.00%(12/30), 肠上皮化生组*H. pylori*感染率为63.33%(19/30), 胃癌组*H. pylori*感染率为37.50%(18/48), 慢性胃炎组与肠上皮化生组相比较*H. pylori*感染率差异无统计学意义($P>0.05$), 肠上皮化生组与胃癌组*H. pylori*感染率差异有统计学意义($P<0.05$), 慢性胃炎组与胃癌组相比*H. pylori*感染率差异无统计学意义($P>0.05$)(表3).

2.4 *H. pylori*感染对胃黏膜MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白表达的影响 慢性胃炎组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P>0.05$), MUC2黏蛋白

阳性表达率为0.0%, 而肠上皮化生组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P>0.05$), MUC2黏蛋白上升($P>0.05$). 胃癌组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P>0.05$), 但MUC2黏蛋白表达阳性率下降($P<0.05$).

3 讨论

胃癌的发展过程经历了慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异性增生、胃癌一系列病理阶段^[6]. 黏蛋白是分布在人体消化系统的高分子量糖蛋白, 对上皮细胞起重要的保护和润滑作用. 按结构特点黏蛋白分为细胞表面型和凝

■创新盘点
本研究通过免疫组织化学技术检测了沿海青岛地区MUC1和MUC2黏蛋白在胃癌发展阶段不同类型胃黏膜的表达情况, 并探讨他们与*H. pylori*的相关性.

■应用要点

MUC1和MUC2黏蛋白可能与胃癌的发展相关, 他们的表达异常可能作为胃癌诊断的生物学指标对胃癌的治疗及预后提供理论基础。

胶形成型^[11], 前者研究比较多的黏蛋白是MUC1黏蛋白, 后者研究则集中在MUC2黏蛋白。

MUC1黏蛋白是一种细胞表面型黏蛋白, 可表达于正常人胃黏膜, 在胃窦部的表层黏膜上皮广泛表达, 在胃窦部幽门腺和胃体腺中呈灶状表达^[12]。2006年Wang和Fang^[23]通过免疫组织化学方法研究了中国重庆地区胃癌患者MUC1黏蛋白表达情况, 结果发现46例胃癌患者胃癌组织MUC1黏蛋白阳性表达率63.04%, 胃癌前病变组织MUC1黏蛋白阳性表达率51.35%。本研究通过免疫组织化学法检测了MUC1黏蛋白在慢性浅表性胃炎病变过程中的表达情况, 结果显示MUC1黏蛋白在慢性浅表性胃炎、肠上皮化生胃黏膜、胃癌组织中的阳性表达率分别为93.33%、86.67%、79.17%, 阳性表达率逐渐降低, 研究结果与上述文献报道不同, 原因可能与研究对象的饮食习惯、遗传、*H. pylori*感染及种族差异有关^[19]。因胃癌的发生是一个多因素、多步骤的复杂过程, *H. pylori*作为胃癌的I类致癌原, 是慢性活动性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤和胃癌的主要致病因素, 大约70%的胃癌被认为是由*H. pylori*引起的^[14]。黏蛋白可能参与了*H. pylori*感染机制并影响*H. pylori*的定植^[15,16], 2010年Radziejewska等^[17]通过酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法检测了13例胃液标本中MUC1黏蛋白存在情况及*H. pylori*与MUC1黏蛋白的黏附情况, 结果显示所有被检测的胃液标本中都含有MUC1黏蛋白, 而且*H. pylori*都可以与MUC1黏蛋白相黏附, 提示*H. pylori*感染可以导致MUC1黏蛋白表达降低^[18], 2008年Radziejewska^[21]等通过Western blot方法检测了*H. pylori*治疗对胃炎患者胃液中MUC1黏蛋白的影响, 结果显示在治疗之前几乎所有患者胃液中MUC1黏蛋白的含量都较低, 而在治疗末期所有患者胃液中MUC1黏蛋白的含量均有升高, 提示*H. pylori*可以抑制细胞膜MUC1黏蛋白的表达。MUC1黏蛋白能够为胃黏膜提供保护性屏障, 限制*H. pylori*定植于胃黏膜上皮表面以及*H. pylori*导致的炎症^[20]。已经有研究证实MUC1黏蛋白在胃组织中的表达与*H. pylori*相关疾病的发生呈负相关^[21]。2002年Vinall等^[22]使用免疫组织化学方法分析了欧洲人群中胃炎患者胃上皮MUC1黏蛋白表达情况, 结果显示41例*H. pylori*阴性胃炎患者中胃上皮MUC1黏蛋白

表达阳性率为82.93%, 而在36例*H. pylori*阳性胃炎患者的MUC1黏蛋白表达阳性率为0%。2006年Wang和Fang^[23]通过免疫组织化学方法研究了中国重庆地区胃癌患者MUC1黏蛋白表达情况, 结果显示*H. pylori*阳性患者中50%胃癌组织表达MUC1黏蛋白, 33.33%胃癌前组织表达MUC1黏蛋白, *H. pylori*阴性患者中, 80%患者胃癌组织表达MUC1黏蛋白, 68.8%胃癌前组织表达MUC1黏蛋白, 提示与*H. pylori*阴性胃病变组织相比, MUC1黏蛋白在*H. pylori*阳性胃癌前病变和胃癌组织的表达率显著下降。本研究通过免疫组织化学方法检测了青岛地区慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组患者中*H. pylori*(+)组和*H. pylori*(-)组MUC1黏蛋白的表达阳性率, 结果显示各组中*H. pylori*(+)患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较*H. pylori*(-)患者下降, 与以上文献报道一致。

MUC2黏蛋白是一种凝胶形成型黏蛋白, 是形成结肠黏液层的主要黏蛋白, 正常胃黏膜不表达^[9,10]。1999年Reis等^[24]通过免疫组织化学方法检测了胃黏膜肠化生组织MUC2黏蛋白的表达情况, 结果显示在不完全肠化或肠化组织中都有MUC2黏蛋白的表达, 而且几乎都表达于杯状细胞内。2006年Barresi等^[13]使用免疫组织化学方法检测MUC2黏蛋白在胃癌组织中的表达阳性率, 结果显示37例胃癌组织中其阳性表达率为48.65%。本研究发现MUC2黏蛋白全部在肠上皮化生胃黏膜中杯状细胞中表达, 在慢性浅表性胃炎胃黏膜中不表达, 而在胃癌组织中的表达阳性率为31.25%, 表明MUC2黏蛋白和胃癌的发展相关。MUC2黏蛋白在不同组织类型胃癌组织中的阳性表达率有显著差异, 中高分化腺癌阳性率高于低分化腺癌、印戒细胞癌、黏液腺癌, 并且在黏液腺癌中呈高表达, 推断MUC2黏蛋白可能与胃癌的组织学分型、预后及肿瘤的进展相关, 本研究为新的胃黏膜癌变发展监测及临床预后新指标的研究提供了理论基础^[25,26]。2008年Kazuyuki Matsuda等^[27]使用实时逆转录聚合酶链反应(Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测了*H. pylori*感染对不同胃癌细胞系MUC2黏蛋白mRNA水平的影响, 结果显示*H. pylori*感染诱导或不改变胃癌细胞MUC2黏蛋白mRNA的表达。2013年Michaël Perrais等^[28]使用细胞感染的体外模型研究了*H. pylori*的尿素酶、鞭毛蛋白及毒力因子CagA对MUC2基因调控的影响, 结果显示胃癌

细胞*H. pylori*的感染可以改变MUC2基因的转录. 本研究发现慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组中*H. pylori*(+)患者胃黏膜MUC2黏蛋白的阳性表达率较*H. pylori*(-)患者相比, 无明显规律性, 因此*H. pylori*感染与胃黏膜中MUC2黏蛋白表达的关系需要研究进一步的证实.

4 参考文献

- Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 431-457 [PMID: 17850209]
- Bafna S, Kaur S, Batra SK. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene* 2010; 29: 2893-2904 [PMID: 20348949 DOI: 10.1038/onc.2010.87]
- Kim YS, Gum J, Brockhausen I. Mucin glycoproteins in neoplasia. *Glycoconj J* 1996; 13: 693-707 [PMID: 8909996]
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49 [PMID: 14320675]
- Chiba T, Marusawa H, Seno H, Watanabe N. Mechanism for gastric cancer development by *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1175-1181 [PMID: 18637055 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05472.x.]
- De Bolós C, Garrido M, Real FX. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach. *Gastroenterology* 1995; 109: 723-734 [PMID: 7657100]
- Reis CA, David L, Nielsen P. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer* 1997; 74: 112-121
- Piafsky KM, Borgá O, Odar-Cederlöf I, Johansson C, Sjöqvist F. Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease-induced elevations of plasma alpha1 acid glycoprotein. *N Engl J Med* 1978; 299: 1435-1439 [PMID: 82206]
- Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET, Dahiya R, Kim YS. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res* 1993; 53: 641-651 [PMID: 7678777]
- McGuckin MA, Lindén SK, Sutton P, Florin TH. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 265-278 [PMID: 21407243 DOI: 10.1038/nrm]
- 邓敏,靖大道.胃黏蛋白在抗幽门螺杆菌感染中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 798-802
- Barresi V, Vitarelli E, Grosso M, Tuccari G, Barresi G. Relationship between immunoexpression of mucin peptide cores MUC1 and MUC2 and Lauren's histologic subtypes of gastric carcinomas. *Eur J Histochem* 2006; 50: 301-309 [PMID: 17213039]
- Lindén SK, Sheng YH, Every AL, Miles KM, Skoog EC, Florin TH, Sutton P, McGuckin MA. MUC1 Limits *Helicobacter pylori* infection both by steric hindrance and by acting as a releasable decoy. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000617 [PMID: 19816567 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000617]
- Snyder LM, Liu SC, Palek J, Bulat P, Edelstein L, Srivastava SK, Fortier NL. Partition of catalase and its peroxidase activities in human red cell membrane: effect of ATP depletion. *Biochim Biophys Acta* 1977; 470: 290-302 [PMID: 20953 DOI: 10.1007/s10238-010-0113-6]
- Morgenstern S, Koren R, Moss SF, Fraser G, Okon E, Niv Y. Does *Helicobacter pylori* affect gastric mucin expression? Relationship between gastric antral mucin expression and *H. pylori* colonization. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 19-23 [PMID: 11204804]
- Orth DN. Metyrapone is useful only as adjunctive therapy in Cushing's disease. *Ann Intern Med* 1978; 89: 128-130 [PMID: 208445]
- Byrd JC, Yunker CK, Xu QS, Sternberg LR, Bresalier RS. Inhibition of gastric mucin synthesis by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2000; 118: 1072-1079 [PMID: 10833482]
- Palli D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 84-89 [PMID: 10779225]
- Radziejewska I, Borzym-Kluczyk M, Kisiel DG, Namiot Z, Gindzieński A. The influence of *Helicobacter pylori* patients' treatment on MUC 1 content in gastric juice. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1887-1889 [PMID: 19102415]
- McGuckin MA, Every AL, Skene CD, Linden SK, Chionh YT, Swierczak A, McAuley J, Harbour S, Kaparakis M, Ferrero R, Sutton P. Muc1 mucin limits both *Helicobacter pylori* colonization of the murine gastric mucosa and associated gastritis. *Gastroenterology* 2007; 133: 1210-1218 [PMID: 17919495]
- Guang W, Ding H, Czinn SJ, Kim KC, Blanchard TG, Lillehoj EP. Muc1 cell surface mucin attenuates epithelial inflammation in response to a common mucosal pathogen. *J Biol Chem* 2010; 285: 20547-20557 [PMID: 20430889 DOI: 10.1074/jbc.M110.121319]
- Vinall LE, King M, Novelli M, Green CA, Daniels G, Hilkens J, Sarner M, Swallow DM. Altered expression and allelic association of the hypervariable membrane mucin MUC1 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterology* 2002; 123: 41-49 [PMID: 12105832]
- Wang RQ, Fang DC. Effects of *Helicobacter pylori* infection on mucin expression in gastric carcinoma and pericancerous tissues. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 425-431 [PMID: 16509869]
- Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolós C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res* 1999; 59: 1003-1007 [PMID: 10070955]
- Babu SD, Jayanthi V, Devaraj N, Reis CA, Devaraj H. Expression profile of mucins (MUC2, MUC5AC and MUC6) in *Helicobacter pylori* infected preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium. *Molecular Cancer* 2006; 5: 10 [PMID: 16545139]
- İlhan Ö, Han Ü, Önal B, Çelik SY. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21:

同行评价

本文内容充实, 具有一定意义.

- 345-352 [PMID: 21331986]
- 28 Matsuda K, Yamauchi K, Matsumoto T, Sano K, Yamaoka Y, Ota H. Quantitative analysis of the effect of *Helicobacter pylori* on the expressions of SOX2, CDX2, MUC2, MUC5AC, MUC6, TFF1, TFF2, and TFF3 mRNAs in human gastric carcinoma cells. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 25-33 [PMID: 18938748]
- 29 Perrais M, Rousseaux C, Ducourouble MP, Courcol R, Vincent P, Jonckheere N, Van Seuning I. *Helicobacter pylori* urease and flagellin alter mucin gene expression in human gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 2013 May 24. [Epub ahead of print] [PMID: 23703470]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆, 中国人民解放军总医院南楼消化内镜诊疗科 北京市 100853
陈孝, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的内镜诊断和治疗。
军队“十一·五”卫生科研面上基金资助项目, No. 07A0703
作者贡献分布: 陈孝、张子其及王志强对此文所作贡献均等; 此课题由陈孝、张子其及王志强设计; 临床诊断治疗过程由陈孝、张子其、王志强及刘婧完成; 付永和、张钰及周庆主要承担技师工作; 数据统计与分析由陈孝完成; 本文文写作由陈孝完成。
通讯作者: 陈孝, 副主任医师, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院南楼消化内镜诊疗科, chenxiaoxiao301@sina.com
收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-08-27
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Long-term outcomes of endoscopic treatment of early gastric cancer in elderly patients

Xiao Chen, Zi-Qi Zhang, Zhi-Qiang Wang, Jing Liu, Yong-He Fu, Yu Zhang, Qing Zhou

Xiao Chen, Zi-Qi Zhang, Zhi-Qiang Wang, Jing Liu, Yong-He Fu, Yu Zhang, Qing Zhou, Center for Geriatric Endoscopy, Nanlou Division, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Supported by: the General Program of the “Eleventh Five-year” Military Health Foundation, No. 07A0703
Correspondence to: Xiao Chen, Associate Chief Physician, Center for Geriatric Endoscopy, Nanlou Division, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenxiaoxiao301@sina.com
Received: 2013-05-10 Revised: 2013-08-27
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To assess the effectiveness and safety of endoscopic methods for the treatment of early gastric cancer in elderly patients.

METHODS: Forty-five consecutive patients with early gastric carcinoma (50 lesions) who underwent endoscopic treatment in the Department of Geriatric Endoscopy in General Hospital of PLA from April 1992 to December 2011 were included. Forty-four patients were followed (median, 48.53 mo \pm 44.96 mo). Endoscopic treatments included endoscopic mucosa resection (EMR), endoscopic submucosa dissection (ESD), argon plasma coagulation (APC), photodynamic therapy (PDT), laser irradiation, electrocoagulation, and submucosal injection of chemical agents.

RESULTS: Each early gastric carcinoma lesion underwent endoscopic treatment by a mean of 1.98 sorts of methods and a mean of 3.08 times of treatments. In total, 32 lesions obtained radical cure by endoscopy. There were 16 patients without radical cure, of whom 7 underwent an additional operation, 4 died of gastric remnant carcinoma, and 5 died of causes other than gastric cancer. The 3-, 5- and 10-year survival rates were 94.44%, 78.70% and 78.70%, respectively. There were no serious endoscopic treatment-associated complications such as bleeding and perforation.

CONCLUSION: Early gastric carcinoma can be radically cured by endoscopic methods. Endoscopic treatment is not indicated for gastric remnant carcinoma and early gastric carcinoma with low differentiation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Early gastric carcinoma; Endoscopic treatment; Indications; Long-term follow-up; Geriatric

Chen X, Zhang ZQ, Wang ZQ, Liu J, Fu YH, Zhang Y, Zhou Q. Long-term outcomes of endoscopic treatment of early gastric cancer in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3119-3123 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3119.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3119>

摘要

目的: 了解早期胃癌内镜下综合治疗方案的选择及其长期效果。

方法: 回顾性分析1992-4/2011-12由我科诊断并进行内镜治疗的早期胃癌45病例的临床资料及其长期随访结果。

结果: 45例患者的癌灶50个进行了内镜治疗。45例患者共进行治疗156次或疗程。每个病灶的接受治疗方法平均为1.98种 \pm 1.21种(1-5种), 治疗次数平均为3.08次 \pm 3.04次(1-14次)。除1例在内镜治疗后失访外, 其余均接受了胃

■背景资料

近年来早期胃癌内镜治疗的方法获得重大突破, 疗效也获得显著提升, 为胃癌治疗提供了丰富的选择。老年胃癌患者在合并多种疾患时无法外科手术, 内镜微创治疗经常作为首要治疗方案为祛除疾患、延长生命提供了重要保障。

■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

■ 研发前沿

早期胃癌内镜治疗适应症的掌握和治疗方法的合理选择仍面临许多亟待解决的问题,有待进一步深入研究、优化。

镜定期复查随访,随访率为97.78%,平均随访时间为 $48.53 \text{ mo} \pm 44.96 \text{ mo}$ (3-190 mo)。经内镜治疗后,32个病灶胃镜检查并经活组织病理证实已彻底清除,病灶原位清除率为64.0%。接受随访的44例患者内镜治愈28例;癌组织残留16例:其中死于胃癌4例(均为残胃癌、均治疗7疗程、平均生存时间为42.33 mo),补充手术7例,死于其他疾病5例。经内镜治疗后,早期胃癌患者3年生存率为94.44%,5年和10年生存率均为78.70%。所有患者均耐受了内镜下胃癌的治疗,无一例发生消化系出血、穿孔等严重并发症。

结论:早期胃癌内镜下治疗可以完全达到根治性效果,但残胃癌和低分化或者病损范围较大的早期胃癌不适合进行内镜下治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:早期胃癌;内镜治疗;适应症;长期随访;老年人

核心提示:病例选择是早期胃癌内镜治疗成功与否的关键,治疗方法的选择对早期胃癌治疗效果有重要影响,围手术期的细致处理可以减少内镜治疗并发症。

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆. 老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3119-3123 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3119.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3119>

0 引言

胃癌是危害人们身体健康的重要恶性肿瘤之一,其治疗手段首选手术切除^[1]。早期胃癌具有可完全治愈性,部分患者由于自身原因无法或拒绝接受手术治疗,从而丧失根治机会,造成不可估量的损失^[1,2]。随着内镜设备和操作技术的发展,早期胃癌经内镜微创治疗获得根治得以实现^[3-5]。我科从1992年始开展了早期胃癌的内镜下治疗,取得了良好的效果。现总结报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 1992-04/2011-12在我科就诊并检出的早期胃癌患者。纳入本研究条件是:(1)经两位副主任医师以上依据胃镜表现和其他检查方法(如上消化道气钡双重造影、CT扫描、超声内镜等)及各项临床资料确诊为早期胃癌者;(2)患者主动要求进行内镜下局部治疗,且签订“胃癌内镜治疗知情同意书”;(3)病情和治疗方案同时上报医院专业领导和患者所属单位,经审查后同意者。符

合上述条件共计45例,男44例,女1例,平均年龄为 $72.81 \text{岁} \pm 7.97 \text{岁}$ (65-92岁)。病理诊断由两位高年资主治医师资质以上人员复核确诊。胃癌内镜治疗方案由两位具有副主任医师以上职称的内镜医师依据病情确定。仪器与材料:电子胃镜XQ-200、XQ-240、XQ-260、H-260和Olympus PSD-2E高频电发生器为Olympus光学株式会社制造。氩离子治疗仪APC 300型为德国爱尔博电子医疗仪器公司制造。内镜配件如:电凝管、圈套器由Olympus制造;IEAU-3型金蒸气激光治疗仪和脉冲Nd:YAG激光治疗机为国产;血卟啉单甲醚由第二军医大学研制。

1.2 方法

1.2.1 内镜治疗:本研究所采用的内镜治疗方法共计10种,包括:电切、透明帽辅助黏膜切除术(Cap-assisted endoscopic mucosa resection, CAPEMR)、黏膜切除术(endoscopic mucosa resection, EMR)、黏膜下剥离术(endoscopic submucous dissection, ESD)、光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)、高频电电凝、金蒸气激光烧灼、氩气刀电凝(argon plasma coagulation, APC)、黏膜下注射治疗(注射化疗药物或生物制剂)、活检钳钳除。

1.2.2 治疗方案的选择原则:以镜下形态为主要依据选择内镜治疗方案,同时兼顾组织学类型,力争做到治疗方案的个性化^[6]。I型早期胃癌选择电切或EMR为主;IIa型以电切、EMR或CAPEMR为主,IIb型EMR或CAPEMR为主,辅以电凝、APC或PDT等方法;IIc型以EMR、激光、PDT为主、辅以电凝、注射化疗;III型以激光、PDT、电凝为主,辅以注射化疗。治疗间隔时间和治疗次数依据病灶大小、浸润深度、治疗效果、治疗反应以及患者的耐受程度确定。

1.2.3 内镜治疗后处理方案:依据内镜治疗的创伤情况决定禁食程度、卧床静养时间,酌情使用质子泵抑制剂口服或静脉滴注、补液。

1.2.4 治愈标准:(1)内镜切除活组织标本经病理切片证实癌灶已完全切除;(2)内镜治疗后胃镜复查并进行活组织检查至少两次,均未发现癌组织残留或中重度异型增生者。满足以上条件之一者视为病灶完全清除。

统计学处理 统计使用STATA10.0软件完成,生存分析采用Kaplan-Meier生存分析法。

2 结果

2.1 早期胃癌患者的一般情况和病灶状况 45例

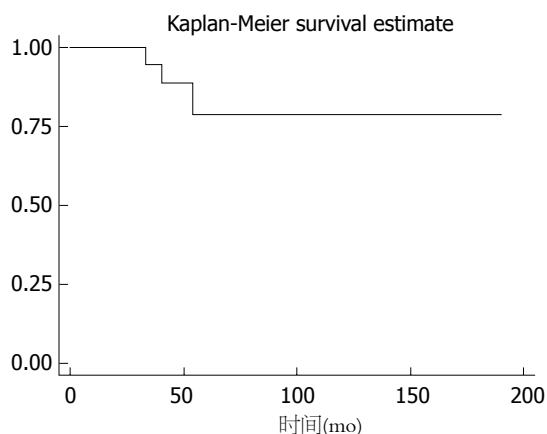


图 1 44例早期胃癌内镜治疗后生存分析。

早期胃癌患者, 无症状27病例, 上腹痛6例、上腹部不适8例、消化系失血(黑便)3例、吞咽不畅1例。

45例患者的癌灶50个, 分布为: 贲门14个、残胃8个、胃体10个、胃角5个、胃窦10个、胃底3个。癌组织分化程度: 低分化6个、中分化3个、高分化41个。病灶胃镜下形态: I型6个、IIa型4个、IIb型12个、IIc型24个、III型4个。癌灶大小: <0.5 cm 24个、0.5-1.0 cm 10个、1.0-2.0 cm 8个、>2.0 cm 8个。

2.2 早期胃癌的内镜治疗方案 45例患者共进行治疗156次或疗程。每个病灶的接受治疗方法种类平均为1.98种 \pm 1.21种(1-5种), 治疗次数平均为3.08次 \pm 3.04次(1-14次)。治疗方法的种类和次数分别为: 透明帽辅助黏膜切除术12例次, 黏膜切除术24例次, 黏膜下剥离术4例次, 电切18例次, 高频电凝21例次, PDT 10例次, APC 21例次, 激光3例次, 注射化疗41例次, 活检2例次。其中只进行了1次治疗即获得根治性效果的有病灶27个, 2次治疗者有14个病灶, 3次治疗者3个病灶, 4次治疗者3个病灶, 5次治疗者2个病灶, 6次治疗者2个病灶, 7次治疗者5个病灶, 9次治疗者1个病灶, 14次治疗者1个病灶。

2.3 早期胃癌的内镜治疗效果及随访 45例早期胃癌患者, 除1例在内镜治疗后失访外, 其余均接受了胃镜定期复查随访, 随访率为97.78%, 平均随访时间为48.53 mo \pm 44.96 mo(3-190 mo)。经内镜治疗后, 32个病灶胃镜检查并经活组织病理证实已彻底清除, 病灶原位清除率为64.0%。随访44例经内镜治愈28例(随访期间死于其他疾病8例); 癌组织残留16例: 其中死于胃癌4例(均为残胃癌、均治疗7疗程、平均生存时间为42.33 mo), 补充手术7例, 死于其他疾病5

例。病灶经1种方法1次治疗即达到治愈者24例: CAPEMR 3例, EMR 5例, ESD 4例, 电切1例, 高频电2例, PDT 3例, APC 3例, 活检2例, 激光1例。经内镜治疗后, 早期胃癌患者3年生存率为94.44%(95%可信区间为66.64%-99.20%), 5年和10年生存率均为78.70%(95%可信区间为45.33%-93.01%)(图1)。

所有患者均耐受了内镜下胃癌的治疗, 部分患者在内镜治疗后出现了轻微腹痛、烧心、心悸等症状, 在对症处理后均在3 d内完全缓解, 无一例发生消化系出血、穿孔等严重并发症。

3 讨论

胃癌是危害我国人们身体健康甚至生命的重要原因。胃癌的治疗仍以手术切除为首选, 这是获得根治性治疗的最佳方式。但临床上也存在一些特殊情况, 比如: 合并多器官严重疾病而无法耐受大手术者; 对手术恐惧而拒绝手术者, 即使早期诊断了胃癌, 仍无法获得彻底治疗。对这部分患者应该采取何种合理的处置是值得临床医师思考的问题^[7-9]。

治疗内镜技术是在内镜学发展到了一定程度基础上逐渐形成并完善的。治疗内镜为胃癌的微创治疗带来了革新, 也为早期胃癌的根治性治疗带来了更完备的选择^[10]。EMR^[11,3,11,12]是早期胃癌进行内镜下根治性微创治疗的主要方法, 文献报道其成功率可达76%-100%, 无癌存活率最高可达99%。目前, EMR已被广泛应用于早期胃癌的镜下治疗。但EMR的最主要适应症是: 高分化型早期胃癌, 且直径<2 cm的隆起型病变或<1 cm的凹陷型病变^[3], 而对病变范围较大或者是凹陷型早期胃癌处理上则需要操作技术更高的ESD^[3,13]来完成, 但即使如此, ESD带来更多根治性治疗的同时, 并发症的发生更多了, 而且依然有部分病例无法获得根治性治疗效果^[14-18]。非切除类方法如激光、光动力疗法、高频电、APC等可适用于病变范围更大的早期胃癌, 而且不良反应低、方法更简洁方便^[19-23]。目前, 各种内镜下早期胃癌治疗方法的综合运用基本可以治愈所有类型和范围的早期胃癌。本研究对45例早期胃癌进行内镜下综合性治疗, 获得了3、5、10年存活率分别为94.44%、78.70%、78.70%的效果。若除去本组中对生存统计有较大影响的5例残胃癌患者, 则本组早期胃癌经内镜治疗后的5年、10年存活率高达100%, 无1例早期胃癌患者在内镜治疗后死于胃癌。

■ 相关报道

日本在早期胃癌的内镜诊断治疗上一直处于学界领先。针对各种内镜治疗方法在早期胃癌治疗的运用面临的优势和缺陷都有详实的论述, 有重要的指导价值。

■创新盘点

本文所累积的临床病例时间跨度长、病例种类丰富、治疗方法多种多样,几乎涵盖了目前所有的早期胃癌内镜治疗方法,因此获得的结论可靠,对临床运用具有确切的指导价值。

治疗方法的选择对早期胃癌治疗效果有重要影响。原则上隆起性或平坦性病变应首选黏膜切除类方法,而凹陷性病变则需根据病变部位、大小、组织学形态等进行综合判定以选择最适合方法^[1,2,10]。本组使用的治疗方法中,黏膜切除类共计达到了28例次,其中首选为15个病灶,单一方法达到根治性效果6个病灶;使用非黏膜切除类方法共达63例次,其中20个病灶首选,单一方法即可获得根治性效果7个,两者之间无显著差异;在多种内镜治疗方法综合运用的19个早期胃癌病灶中,9个获得根治性效果,可见只要针对病人进行个性化方案设计,这两类治疗方法均可以完全获得根治性效果。本组在治疗方法的选择上:首选烧灼类超过了黏膜切除类可能的原因有:(1)不同年代内镜治疗方法的成熟度不一。本组病例时间跨度长。早先时,黏膜切除类方法在临床上使用不成熟,故很少使用;(2)受制于治疗时间的控制。本组均为老年患者,大部分病例合并有多器官疾病,无法耐受长时间操作。在治疗方法选择上倾向于选择操作简便、快捷的手段;(3)病灶的形态。本组病例平坦型和凹陷型病例明显多于隆起型病例(56.76% vs 43.24%)。本组还另有2例“一点癌”,在活检时即被完全钳除,可见活检不仅是诊断手段,而且对早期病灶尤其是微小病灶的毁损作用还是相当明显的。局部注射药物的方法则完全为辅助性治疗,难以达到根治性作用。本组9个病灶在进行黏膜切除类或非黏膜切除类内镜治疗的基础上,进行了注射化疗药物或者生物制剂治疗,只有1个病灶在获得根治性效果时最后一次治疗措施是注射生物制剂,进一步验证了这个观点。

病例选择是早期胃癌内镜治疗成功与否的关键。一般认为范围超过2 cm的凹陷性或病理为低分化腺癌的早期胃癌不适合内镜下治疗^[6]。本组结果进一步支持了这种论点。本组5例低分化腺癌,经内镜治疗后均未达到根治性效果^[24,25],2例为残胃癌,治疗无效死亡;1例治疗期间死于白血病,2例治疗无效后追加手术治疗。本组4例内镜下病变大小超过2 cm的早期胃癌,内镜获得根治性效果2例,1例(残胃癌)无效死亡,1例无效追加手术治疗,术后病理显示病变范围为10 cm × 5.8 cm,累及黏膜肌层。另外,本组中的5例残胃癌只2例获得根治,3例无效死亡,表明残胃癌即使为早期也不适合进行内镜下治疗。分析其原因为:残胃癌的发病机制与胃癌不同^[26],病理

性质更加趋向于低分化(本组为2例),易早期转移;残胃胃腔狭小,病变不易充分暴露且内镜操作空间有限,内镜治疗不易原位切净。内镜治疗效果欠佳而需补充手术治疗的5例患者,其镜下表现均为凹陷性病变(平坦凹陷型3例、凹陷型2例)。

早期胃癌的内镜治疗还必须考虑手术并发症问题。黏膜切除类方法的并发症是所有内镜下治疗方法中发生率最高的,可达到4%-28%,最常见的是消化道出血和穿孔。本组所进行的总计156例次内镜下早期胃癌治疗术,无1例严重并发症的发生,我们的体会是:(1)合理确定治疗时机,术前充分准备;(2)增强爱伤观念,操作轻柔,避免不必要的动作和减少对消化系内壁的直接刺激;(3)加强医患沟通,坚持术后随访,及时处理术后情况;(4)严格围治疗期管理,保证患者在治疗后有足够的休息时间和获得充分的药物治疗。

总之,内镜综合治疗是早期胃癌获得根治性疗效的有效手段,通过选择合适的病例和适当的治疗方法,完全可以得到与手术相媲美的疗效,而且手术创伤小、并发症少,值得推广。

4 参考文献

- 1 Ono H. Early gastric cancer: diagnosis, pathology, treatment techniques and treatment outcomes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 863-866 [PMID: 16825902]
- 2 Reshamwala PA, Darwin PE. Endoscopic management of early gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 541-545 [PMID: 16891887]
- 3 Gotoda T, Jung HY. Endoscopic resection (endoscopic mucosal resection/ endoscopic submucosal dissection) for early gastric cancer. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 1: 55-63 [PMID: 23362925 DOI: 10.1111/den.12003]
- 4 Baptista V, Singh A, Wassef W. Early gastric cancer: an update on endoscopic management. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 629-635 [PMID: 22954691 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328358e5b5]
- 5 Yasuda K. Early gastric cancer: diagnosis, treatment techniques and outcomes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 839-845 [PMID: 16825899]
- 6 Yamamoto H, Kita H. Endoscopic therapy of early gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 909-926 [PMID: 16338649]
- 7 Matsushita I, Hanai H, Kajimura M, Tamakoshi K, Nakajima T, Matsubayashi Y, Kanek E. Should gastric cancer patients more than 80 years of age undergo surgery? Comparison with patients not treated surgically concerning prognosis and quality of life. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 29-34 [PMID: 12080223]
- 8 Etoh T, Katai H, Fukagawa T, Sano T, Oda I, Gotoda T, Yoshimura K, Sasako M. Treatment of early gastric cancer in the elderly patient: results of EMR

- and gastrectomy at a national referral center in Japan. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 868-871 [PMID: 16301028]
- 9 Kusano C, Iwasaki M, Kaltenbach T, Conlin A, Oda I, Gotoda T. Should elderly patients undergo additional surgery after non-curative endoscopic resection for early gastric cancer? Long-term comparative outcomes. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1064-1069 [PMID: 21407189 DOI: 10.1038/ajg.2011.49]
 - 10 Wassef W, Rullan R. Interventional endoscopy. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 644-652 [PMID: 16220039]
 - 11 Crumley AB, Going JJ, McEwan K, McKernan M, Abela JE, Shearer CJ, Stanley AJ, Stuart RC. Endoscopic mucosal resection for gastroesophageal cancer in a U.K. population. Long-term follow-up of a consecutive series. *Surg Endosc* 2011; 25: 543-548 [PMID: 20623237 DOI: 10.1007/s00464-010-1213-1219]
 - 12 Youn JC, Youn YH, Kim TI, Park SW, Lee SJ, Song SY, Chung JB, Lee YC, Youn JC, Youn YH. Factors affecting long-term clinical outcomes of endoscopic mucosal resection of early gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 643-647 [PMID: 16995480]
 - 13 Lian J, Chen S, Zhang Y, Qiu F. A meta-analysis of endoscopic submucosal dissection and EMR for early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 763-770 [PMID: 22884100 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.014]
 - 14 Isomoto H, Ohnita K, Yamaguchi N, Fukuda E, Ikeda K, Nishiyama H, Akiyama M, Ozawa E, Nakao K, Kohno S, Shikuwa S. Clinical outcomes of endoscopic submucosal dissection in elderly patients with early gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 311-317 [PMID: 19494784 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832c61d7]
 - 15 Oda I, Suzuki H, Nonaka S, Yoshinaga S. Complications of gastric endoscopic submucosal dissection. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 1: 71-78 [PMID: 23368986 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01376.x]
 - 16 Suzuki H, Oda I, Nonaka S, Yoshinaga S, Saito Y. Is endoscopic submucosal dissection an effective treatment for operable patients with clinical submucosal invasive early gastric cancer? *Endoscopy* 2013; 45: 93-97 [PMID: 23307150 DOI: 10.1055/s-0032-1325929]
 - 17 Kim M, Jeon SW, Cho KB, Park KS, Kim ES, Park CK, Seo HE, Chung YJ, Kwon JG, Jung JT, Kim EY, Jang BI, Lee SH, Kim KO, Yang CH. Predictive risk factors of perforation in gastric endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer: a large, multicenter study. *Surg Endosc* 2013; 27: 1372-1378 [PMID: 23239296 DOI: 10.1007/s00464-012-2618-4]
 - 18 Yanai H, Matsubara Y, Kawano T, Okamoto T, Hirano A, Nakamura Y, Nakamura H, Nishikawa J, Okita K. Clinical impact of strip biopsy for early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 771-777 [PMID: 15557953]
 - 19 Murakami M, Nishino K, Inoue A, Takaoka Y, Iwamasa K, Murakami B, Tanabe S. Argon plasma coagulation for the treatment of early gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1658-1661 [PMID: 15532798]
 - 20 Tomita T, Arai E, Kohno T, Kondo T, Kim Y, Oshima T, Hori K, Watari J, Matsumoto T, Miwa H. Outcomes of treatment of argon plasma coagulation therapy in elderly or high-risk patients with early gastric cancer: a comparison of outcomes among experienced and nonexperienced endoscopists. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: e54-e59 [PMID: 20838235 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181ef3612]
 - 21 Malick KJ. Clinical applications of argon plasma coagulation in endoscopy. *Gastroenterol Nurs* 2006; 29: 386-391; quiz 392-393 [PMID: 17038840]
 - 22 Wolfsen HC. Uses of photodynamic therapy in premalignant and malignant lesions of the gastrointestinal tract beyond the esophagus. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 653-664 [PMID: 16082272]
 - 23 Gossner L, Ell C. Photodynamic therapy of gastric cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2000; 10: 461-480 [PMID: 10899257]
 - 24 Abe N, Watanabe T, Sugiyama M, Yanagida O, Masaki T, Mori T, Atomi Y. Endoscopic treatment or surgery for undifferentiated early gastric cancer? *Am J Surg* 2004; 188: 181-184 [PMID: 15249247]
 - 25 Nagano H, Ohyama S, Fukunaga T, Seto Y, Fujisaki J, Yamaguchi T, Yamamoto N, Kato Y, Yamaguchi A. Indications for gastrectomy after incomplete EMR for early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2005; 8: 149-154 [PMID: 16086117]
 - 26 Johannesson KA, Hammar E, Staël von Holstein C. Mucosal changes in the gastric remnant: long-term effects of bile reflux diversion and Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 35-40 [PMID: 12544692]

同行评价

本文回顾性分析了单中心20年早期胃癌内镜治疗并进行性了长期随访, 资料详实, 有一定的新颖性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞与HBV携带者的相关性的Meta分析

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏

■背景资料

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染呈世界性流行, 感染HBV后转归及预后影响因素多样。CD4⁺CD25⁺Tregs细胞发挥的免疫调节作用可能对HBV携带者预后及转归产生影响。

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 邱隆敏, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000

徐林, 姚新生, 遵义医学院免疫学教研室 贵州省遵义市 563000

肖政, 遵义医学院循证医学中心(循证医学教育部网上合作研究中心遵义医学院分中心) 贵州省遵义市 563000

潘宗琴, 在读研究生, 主要从事慢性乙型肝炎免疫学发病机制的研究。

贵州省优秀科技教育人才省长专项基金资助项目, No. 黔省专合字(2008)111号

贵州省社会发展公共基金资助项目, No. 黔科合SY[2010]3049号

作者贡献分布: 本课题由潘宗琴、肖政及邱隆敏策划设计; 潘宗琴与吕红负责文献检索、筛选及评价资料; 本论文写作由潘宗琴完成; 姚新生与徐林负责审核; 胡世芸、陈宇及庄勤建共同协助发表。

通讯作者: 邱隆敏, 教授, 563000, 贵州省遵义市大连路145号, 遵义医学院附属医院感染科。qiuml128@163.com

电话: 0852-8609805

收稿日期: 2013-07-20 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Correlation between peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis

Zong-Qin Pan, Hong Lv, Shi-Yun Hu, Yu Chen, Qin-Jian Zhuang, Lin Xu, Xin-Sheng Yao, Zheng Xiao, Long-Min Qiu

Zong-Qin Pan, Hong Lv, Shi-Yun Hu, Yu Chen, Qin-Jian Zhuang, Long-Min Qiu, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Lin Xu, Xin-Sheng Yao, Department of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Zheng Xiao, Evidence-Based Medicine Center, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: the Program for New Century Excellent Talents in University, No. (2008)111; and the Social Development Foundation of Guizhou Province, No. Qiankehe SY[2010]3049

Correspondence to: Long-Min Qiu, Professor, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 145 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. qiuml128@163.com

Received: 2013-07-20 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

■同行评议者

周陶友, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

Abstract

AIM: To reveal the relationship between peripheral

blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers by investigating the distribution characteristics of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Tregs in HBV carriers and other patients with HBV infection.

METHODS: Two reviewers independently searched relevant articles in the databases (PubMed, SCI, Embase, CNKI, WanFang and VIP), evaluated their quality, extracted data and synthesized the data by meta-analysis.

RESULTS: Twenty-four case-control studies were included, but their quality was not high. The level of CD4⁺CD25⁺ Tregs was significantly higher in HBV carriers than in healthy controls ($P = 0.01$). Compared with HBV carriers, a significantly higher level of CD4⁺CD25⁺ Tregs was observed in CHB patients ($P = 0.12$), but a significantly lower level of these cells was noted in patients with acute hepatitis B ($P = 0.15$). The level of CD4⁺CD25⁺ Tregs in chronic HBV carriers was higher than in inactive HBsAg carriers ($P = 0.01$).

CONCLUSION: CD4⁺CD25⁺ Treg cells may play an important role in disease progression and prognosis in HBV carriers.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: HBV carriers; CD4⁺CD25⁺ Treg cells; T-Lymphocytes; Meta-analysis

Pan ZQ, Lv H, Hu SY, Chen Y, Zhuang QJ, Xu L, Yao XS, Xiao Z, Qiu LM. Correlation between peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3124-3131 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3124.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3124>

摘要

目的: 探讨CD4⁺CD25⁺Treg细胞在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)携带者及相关感染

状态中分布特征, 以期揭示其与HBV携带者的相关性, 为临床干预提供依据。

方法: 计算机检索Pubmed、SCI、Embase、CNKI、万方及维普等数据库, 依据Newcastle-Ottawa Scale(NOS)标准评价文献质量, 按照PICOS原则提取资料, 采用RevMan5.1软件进行Meta分析。

结果: 纳入文献24篇。HBV携带者外周血Treg细胞含量较健康对照高($P = 0.01$); 与HBV携带者比较, 慢性乙型肝炎Treg细胞含量较高($P = 0.12$), 急性乙型肝炎较低($P = 0.15$); 慢性HBV携带者Treg细胞高于非活动性HBsAg携带者($P = 0.01$)。Treg细胞含量与HBV DNA、丙氨酸转氨酶是否存在相关性, 因研究一致性差, 结论尚不能确定。

结论: CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: HBV携带者; CD4⁺CD25⁺Treg细胞; 调节性T细胞; Meta分析

核心提示: 外周血CD4⁺CD25⁺Tregs细胞频率与乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏. 外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞与HBV携带者的相关性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3124-3131 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3124.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3124>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界性流行, 感染HBV后转归及预后影响因素多样。Treg细胞(regulatory T cell)是免疫调节细胞, 其最重要的亚群为CD4⁺CD25⁺Tregs, 对肿瘤免疫、内分泌疾病、自身免疫性疾病及慢性感染性疾病等进程及预后有重要影响^[1]。免疫调节对HBV携带者预后及转归有重要影响, 但其机制不清楚, CD4⁺CD25⁺Treg细胞在HBV携带者中发挥何种作用目前尚无可靠证据证实。本研究对HBV携带者CD4⁺CD25⁺Treg细胞相关研究做系统评价及Meta分析, 探讨HBV携带者与其他

HBV感染状态下外周血Treg细胞频率特征及其与相关指标的关系, 以期揭示其与HBV携带者的相关性, 为临床干预提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入标准: (1)研究类型: 临床研究; (2)研究对象: 有明确诊断标准的HBV携带者; (3)干预措施: 采用流式细胞术检测患者外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率。排除标准: (1)动物研究、细胞研究; (2)综述、会议摘要、无关、重复发表或数据混乱、模糊不清的文献。

1.2 方法

1.2.1 检索策略: 两名检索员以检索词: 乙型肝炎、乙肝、乙肝病毒、HBV、HBsAg、携带者、免疫耐受期、Treg细胞、T细胞、hepatitis B、HBV、HBsAg、carrier、immune tolerance、Treg cell、T-Lymphocytes、Regulatory构建中英文检索式: (乙型肝炎or乙肝or乙肝病毒or HBV or HBsAg) and (携带者or免疫耐受期) and (Treg细胞or T细胞)/(hepatitis B or HBV or HBsAg) and (carrier or immune tolerance) and (Treg cell or T-Lymphocytes, Regulatory)。独立检索Pubmed、SCI、Embase、CNKI、万方及维普等数据库(建库至2013-03, 不限语种)。

1.2.2 质量评价标准: 纳入文献均为病例对照研究, 选择Newcastle-Ottawa Scale(NOS)标准^[2], 从选择、可比性、暴露信息3个方面独立评价纳入文献质量。

1.2.3 文献筛选与质量评价: 两位评价员严格按照纳入及排除标准、NOS质量评价标准, 独立筛选及评价文献质量, 任何分歧通过讨论或与第3方讨论解决。

1.2.4 资料提取: 依据PICOS原则设计资料提取表格包括文献出处、发表年代、参考指南、研究对象及对照的例数、干预措施(标本来源、检测方法)、结局指标及研究设计。

统计学处理 采用RevMan5.1软件进行Meta分析。依据纳入研究特征, 纳入研究定量资料(CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量在实验组与对照组之间差异比较)、选用均数差(MD)为合并统计量。对各纳入研究结果进行异质性检验, 根据检验结果(以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义)选择相应数据合并方法。如 $P > 0.05$ 、 $I^2 < 25\%$, 选用固定效应模型、倒方差法计算合并MD值; 反之, 选用随机效应模型、D-L法计算合并MD值, 并分析导致异质性的可能原因。对于临床异质性大、

■研究前沿
CD4⁺CD25⁺Tregs细胞为重要免疫调节细胞, 与HBV不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Tregs细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

■相关报道

杨宜娥等研究结果显示, HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率低于慢性乙型肝炎, CD4⁺CD-25⁺Tregs下调了免疫应答, 造成慢性感染和疾病进展。但是, 周正仕等研究表明HBV携带者外周血CD4⁺C-25⁺Tregs频率高于慢性乙型肝炎, CD4⁺CD25⁺Tregs对HBV携带者维持免疫耐受状态发挥重要作用。

表 1 纳入研究基本特征

文献出处	年代	研究对象					干预措施		结局			研究设计
		RG	P	C1	C2	C3	PB	FC	1	2	3	
李凤惠等 ^[3]	2012	A	26	42	15	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Xu等 ^[4]	2012	/	48	47	28	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
张慧等 ^[5]	2011	C	40	38	40	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
杨宜娥等 ^[6]	2011	A	30	30	20	/	✓	✓	✓	+	-	病例对照
吴小飞等 ^[7]	2011	D	10	18	/	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
程瑗等 ^[8]	2011	C	15	45	15	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
赵爽等 ^[9]	2010	D	30	75	/	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
王玉辉 ^[10]	2010	C	20	32	20	18	✓	✓	✓	/	+	病例对照
谭雨龙 ^[11]	2010	C	24	20	16	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
吕峰等 ^[12]	2010	C	15	26	16	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
李浩等 ^[13]	2010	B	48	52	25	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
丛丽媛等 ^[14]	2010	B	28	14	14	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Zhang等 ^[15]	2010	C	22	42	20	16	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Deng等 ^[16]	2010	C	65	26	/	/	✓	✓	✓	-	+	病例对照
马艳品 ^[17]	2009	BD	10	10	10	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Yang等 ^[18]	2009	D	17	44	16	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
詹爱琴 ^[19]	2008	D	35	50	30	26	✓	✓	✓	-	+	病例对照
刘清泉等 ^[20]	2008	/	15	20	12	/	✓	✓	✓	#	-	病例对照
周正仕等 ^[21]	2007	C	20	20	10	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
乐晓华等 ^[22]	2007	/	21	19	15	/	✓*	✓	✓	/	+	病例对照
Tian等 ^[23]	2007	D	23	28	14	19	✓	✓	✓	/	-	病例对照
Shen等 ^[24]	2007	D	19	19	19	/	✓	✓	✓	/	-	病例对照
杨桂林 ^[25]	2006	C	51	70	55	/	✓*	✓	✓	/	+	病例对照
邢同京 ^[26]	2006	D	25	27	29	/	✓	✓	✓	/	-	病例对照

RG: 参考指南; P: 实验组(HBV携带者); C1: 慢性乙型肝炎; C2: 健康对照; C3: 急性乙型肝炎; PB: 标本(外周血); FC: 流式细胞术; A: 2010版《慢性乙型肝炎防治指南》; B: 2005年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》; C: 2000年修订的《病毒性肝炎防治指南》; D: 2000年中华传染病与寄生虫病学会、肝病分会西安会议标准; 1: CD4⁺CD25⁺Treg细胞占CD4⁺T淋巴细胞百分比; 2: Treg与ALT的相关性; 3: Treg与HBV DNA的相关性; *: 标本有肝组织; /: 未描述; +: 正相关; -: 无相关; #: 负相关。

不可合并的试验结果采用描述性分析。

2 结果

2.1 文献检索及筛选结果 共检索出文献392篇, 依次阅读题目、摘要、全文, 排除重复、无关及无数据综述、会议摘要后, 纳入符合文献24篇(图1)。

2.2 纳入研究基本特征 纳入文献24篇, 均为我国研究, 最早研究为2006年, 近年呈递增趋势, 2010年达高峰。纳入HBV携带者657例、慢性乙型肝炎814例、健康对照439例及急性乙型肝炎79例, 病例诊断标准具有多样性, 包括2010版《慢性乙型肝炎防治指南》、2005年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》、2000年修订的《病毒性肝炎防治指南》、2000年中华传染病与寄生虫病学会、肝病分会西安会议标准等

4个标准。标本为外周血(24篇), 并肝脏活检组织(2篇), 流式检测术等检测CD4⁺CD25⁺Treg细胞及HBV DNA、ALT。主要探讨Treg细胞及对不同HBV感染状态预后影响(表1)。结果表明: 此类研究近年重视程度增加, 流式检测外周血Treg细胞频率, 探讨Treg细胞对不同HBV感染状态预后影响, 但纳入病例诊断标准多样化, 增加了研究异质性。

2.3 质量评价 纳入文献24篇。(1)选择评价: 21项研究有明确诊断标准对研究对象进行分组, 3项诊断标准描述不清楚, 24项对照定义均明确, 但24项研究均非连续收集且有代表性的病例, 对照选择均非社区对照, 选择评分21项研究均为2分, 余3项得1分; (2)可比性评价: 可比性评分6项研究得2分, 18项得1分; (3)暴露评价: 24项研究病例和对照的暴露均采用相同确定方法(流式细

表 2 纳入研究质量评分表

文献出处	年代	选择				可比性		暴露		评分
		1	2	3	4	1	1	2	3	
李凤惠等 ^[3]	2012	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Xu等 ^[4]	2012	—	—	—	*	*	*	*	—	4
张慧等 ^[5]	2011	*	—	—	*	**	*	*	—	6
杨宜娥等 ^[6]	2011	*	—	—	*	*	*	*	—	5
吴小飞等 ^[7]	2011	*	—	—	*	**	*	*	—	6
程瑗等 ^[8]	2011	*	—	—	*	*	*	*	—	5
赵爽等 ^[9]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
王玉辉 ^[10]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
谭雨龙 ^[11]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
吕峰等 ^[12]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
李浩等 ^[13]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
丛丽媛等 ^[14]	2010	*	—	—	*	**	*	*	—	6
Zhang等 ^[15]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Deng等 ^[16]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
马艳品 ^[17]	2009	*	—	—	*	**	*	*	—	6
Yang等 ^[18]	2009	*	—	—	*	*	*	*	—	5
詹爱琴 ^[19]	2008	*	—	—	*	**	*	*	—	6
刘清泉等 ^[20]	2008	—	—	—	*	*	*	*	—	4
周正仕等 ^[21]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
乐晓华等 ^[22]	2007	—	—	—	*	**	*	*	—	5
Tian等 ^[23]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Shen等 ^[24]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
杨桂林 ^[25]	2006	*	—	—	*	*	*	*	—	5
邢同京 ^[26]	2006	*	—	—	*	*	*	*	—	5

选择1: 病例的定义是否充分? 选择2: 病例的代表性; 选择3: 对照的选择; 选择4: 对照的定义; 可比性
1: 基于设计或分析所得的病例与对照的可比性; 暴露1: 暴露的确定; 暴露2: 病例和对照的暴露是否采用了相同的确定方法; 暴露3: 无应答率; *: 1分; -: 0分.

胞术), 暴露因素的确定有可靠记录, 对暴露无应答率均未作描述, 暴露评分24项研究得分均为2分. 结果表明: 整体评分4-6分(表2), 质量均不高.

2.4 不同HBV感染状态CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量差异比较

2.4.1 HBV携带者与慢性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量差异比较: 纳入文献22篇, HBV携带者524例, 慢性乙型肝炎患者724例. 各研究间异质性较大 $P < 0.0001$ 、 $I^2 = 96\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图2)显示: 均数差(MD)的合并效应量(total)为-0.68, 其95%CI(-1.53-0.18), 合并效应量的检验(test for overall effect) $Z = 1.55$, $P = 0.12$. HBV携带者Treg细胞含量较慢性乙型肝炎低, 差异无统计学意义.

2.4.2 HBV携带者与急性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献4篇, HBV携带者90例, 急性乙型肝炎79例. 各研究

间异质性较大, $P = 0.06$ 、 $I^2 = 60\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图3)显示: 均数差(MD)的合并效应量为0.64, 其95%CI(-0.23-1.51), 合并效应量的检验 $Z = 1.45$, $P = 0.15$. HBV携带者Treg细胞含量高于急性乙型肝炎, 差异无统计学意义($P = 0.15$).

2.4.3 HBV携带者与健康对照者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献17篇, HBV携带者407例, 健康对照者360例. 各研究间异质性较大 $P < 0.00001$ 、 $I^2 = 97\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图4)显示: 均数差(MD)的合并效应量为1.24, 其95%CI(0.24-2.23), 合并效应量的检验 $Z = 2.44$, $P = 0.01$. HBV携带者外周血Treg细胞含量较健康对照高, 差异有统计学意义($P = 0.01$).

2.4.4 慢性HBV携带者及非活动性HBsAg携带者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献6篇, 慢性HBV携带者126例, 非活动性HBsAg携带者119例. 各研究间异质性较小 $P =$

■创新盘点

近年来, CD4⁺CD25⁺Tregs在HBV感染发病机制中的作用越来越受到重视, 外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率在不同HBV感染状态呈现的差异及发挥的免疫功能, 各研究结论众说纷纭. 所以本文做此研究, 探究HBV感染状态外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率的分布特征, 分析其与HBV携带者的相关性.

■应用要点

各研究结果显示不同HBV感染状态外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率分布特征不尽相同,可能与纳入研究诊断标准及标本采集时间不统一,检测试剂盒的质量及流式操作、流式设门等因素有关,本文将对HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Tregs的频率进行荟萃分析,为今后的科研和临床研究提供一定的思路。

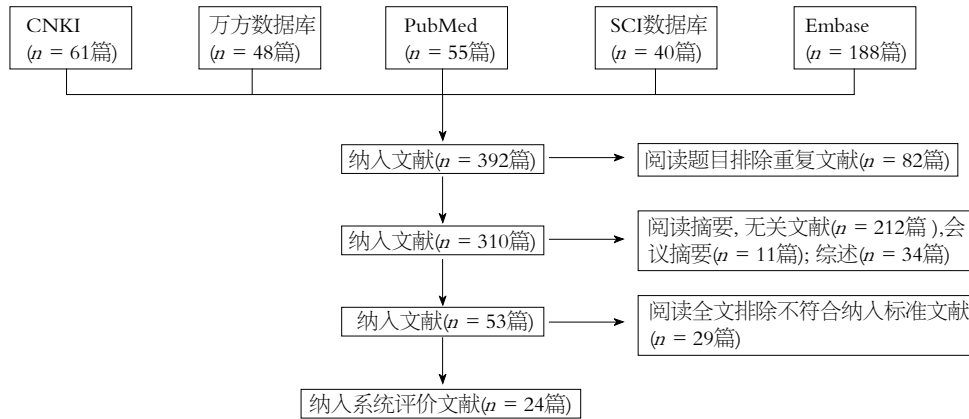
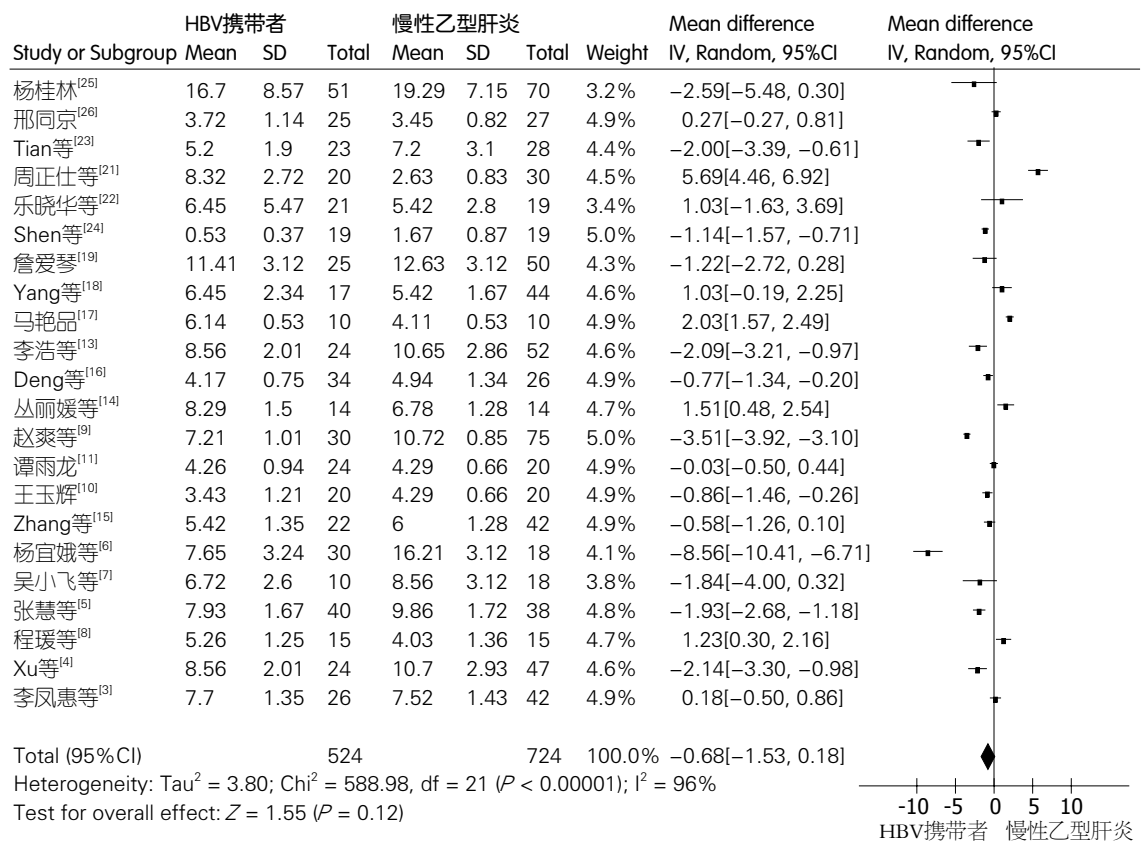


图1 文献筛选流程图。

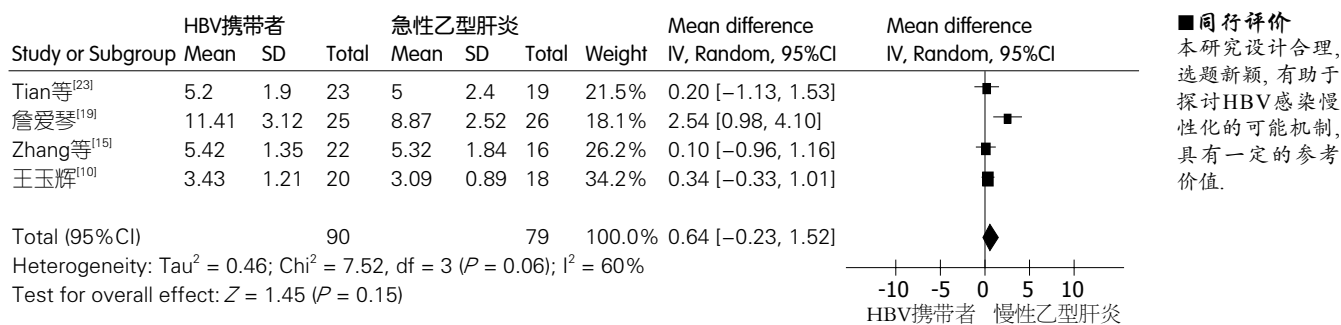
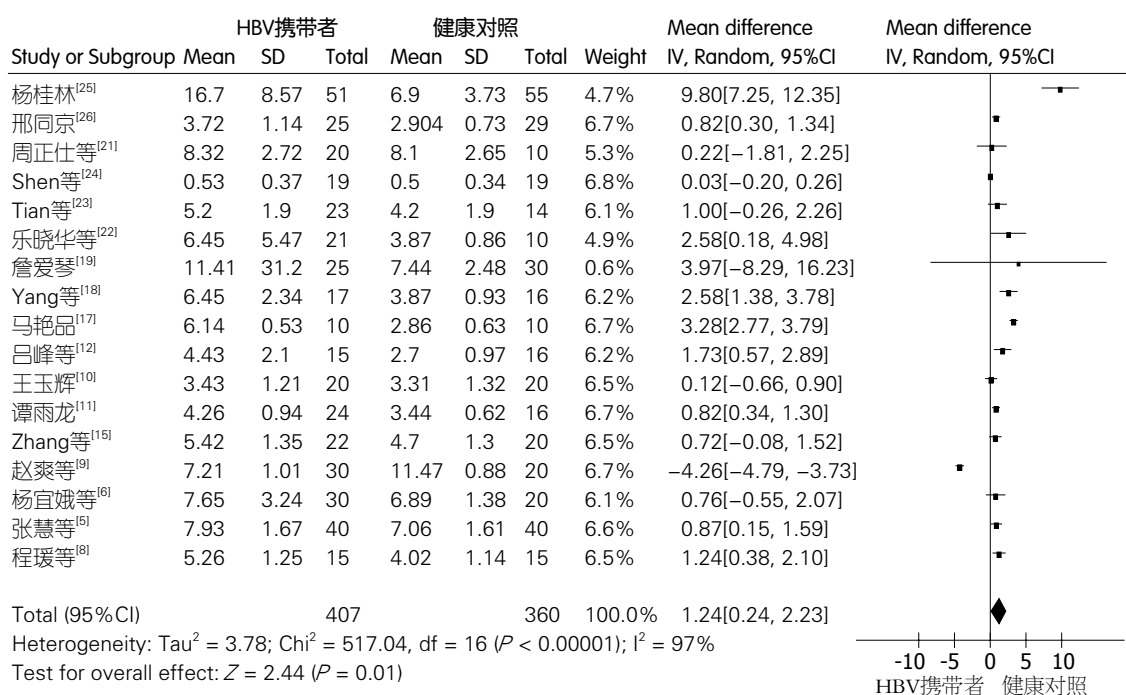
图2 HBV携带者与慢性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析。

0.69, $I^2 = 0\%$, 故选用固定效应模型, 结果(图5)显示: 均数差(MD)的合并效应量(total)为0.41, 其95%CI(0.09-0.72), 合并效应量的检验(test for overall effect) $Z = 2.54$, $P = 0.01 < 0.05$ 。慢性HBV携带者Treg细胞含量高于非活动性HBsAg携带者, 差异有统计学意义($P = 0.01$)。

2.5 ALT、HBV DNA与外周血CD4⁺CD25⁺Treg频率相关性 纳入研究无详细数据描述, 因此采用描述性整合分析提取数据。CD4⁺CD25⁺Treg细

胞含量与ALT的相关性分析7篇, 1项研究(质量评分5分)分析结果两者呈正相关性, 1项(质量评分4分)呈负相关性; 5项研究(质量均分5分)认为无关, 表明各研究一致性差, 质量不高, 提示此相关性不能确定。

CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA的相关性分析17项, 其中9项研究分析(质量评分均在5-6分之间, 均分为5.33分)结果为各研究对象外周血的CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA之

图 3 HBV携带者与急性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析.图 4 HBV携带者与健康对照CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析.

间呈正相关性, 8项研究(质量评分均在4-5分之间, 均分为4.75分)认为两者无相关性. 表明各研究一致性差, 质量不高, 提示其相关性不能确定.

2.6 发表偏倚评价 从研究的漏斗图(未列出)基本对称, 可以看出并无明显发表偏倚.

3 讨论

Treg细胞为免疫调节细胞, 为探讨CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率在HBV携带者与其他HBV感染状态中的分布特征, 揭示其与HBV携带者间的相关性. 本研究系统评价24篇文献, 纳入研究均采用流式细胞术检测CD4⁺CD25⁺Treg, 均为病例对照研究, 采用NOS评价标准评价研究质量, 整体评分为4-6分, 提示研究质量不高. 异质性原因分析: 纳入研究诊断标准多样性, 标本采集时间不一, Treg细胞设门不同、检测试剂盒及流式操作

等为重要影响因素. 因此我们认为: 为相关领域提供更加科学可靠证据, 未来相关研究必须严谨、科学设计.

近年来, CD4⁺CD25⁺Tregs在HBV感染发病机制中的作用越来越受到重视, CD4⁺CD25⁺Treg细胞能抑制机体过度免疫损伤, 也有利于乙型肝炎HBV持续感染^[5]. 本研究结果: HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率较健康对照高, 差异有统计学意义($P = 0.01$), 推测可能机制为感染HBV后, Treg细胞发挥免疫负调作用, 机体清除HBV能力下调, 而导致HBV病毒持续存在, 表现为免疫耐受状态. 本研究显示, HBV携带者Treg细胞高于急性乙型肝炎, 差异无统计学意义($P = 0.15$), 推测Treg细胞降低可能有利于急性乙型肝炎患者清除HBV, 实现HBV转阴; 本研究纳入CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与ALT相关性分析7

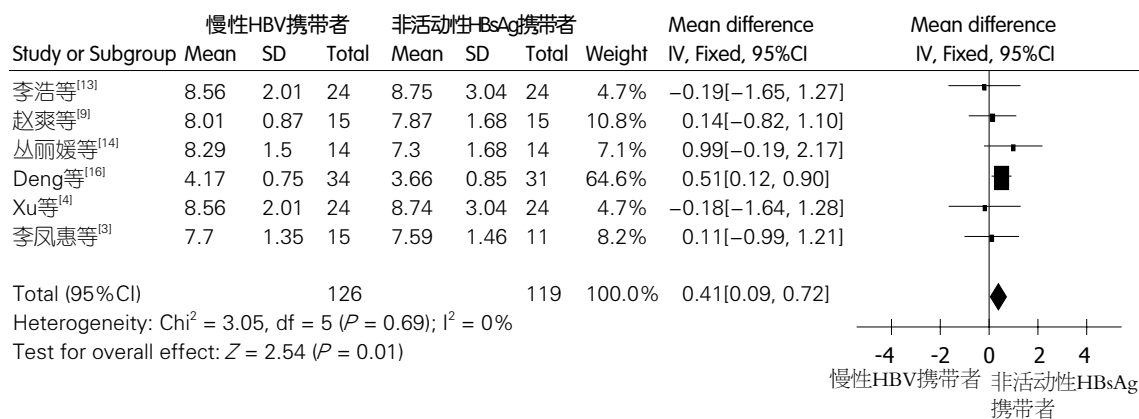


图5 慢性HBV携带者及非活动性HBsAg携带者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析。

篇, 1项研究^[6]认为呈正相关性, 1项^[20]呈负相关, 其他^[4]否定其相关性, 此结论尚有待于新研究证实。慢性乙肝外周血Treg细胞含量较HBV携带者高, 推测是否由于Treg细胞反应性升高, 下调免疫应答, 减轻免疫损伤, 但可能会导致HBV感染慢性化, 此差异无统计学意义($P = 0.12$)、研究异质性大, 尚需进一步研究证实。

本研究表明慢性HBV携带者Treg细胞频率高于非活动性HBsAg携带者, 差异有统计学意义($P = 0.01$), 既往研究表明, Treg细胞为HBV持续感染的重要因素^[5], 推测CD4⁺CD25⁺Treg细胞发挥免疫负调节导致HBV病毒持续存在。本研究纳入CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA的相关性分析17项研究, 有研究^[16]认为两者呈正相关, 另有研究^[11]认为无相关, 研究一致性差, 结论不能确定。

总之, 研究表明CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能与HBV不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。但纳入研究质量不高, 异质性较大, 确切机制尚有待高质量研究证实。

4 参考文献

- de Kleer I, Vastert B, Klein M, Teklenburg G, Arkesteijn G, Yung GP, Albani S, Kuis W, Wulfraat N, Prakken B. Autologous stem cell transplantation for autoimmunity induces immunologic self-tolerance by reprogramming autoreactive T cells and restoring the CD4⁺CD25⁺ immune regulatory network. *Blood* 2006; 107: 1696-1702 [PMID: 16263787]
- Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, Moher D, Becker BJ, Sipe TA, Thacker SB. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA* 2000; 283: 2008-2012 [PMID: 10789670]
- 李凤惠, 吕洪敏, 王芳, 向慧玲, 王凤梅, 李晓爽, 泽塔

多吉, 王鹏. 慢性HBV感染者外周血CXCR5 CD4⁺Tfh细胞的测定及其与FoxP3⁺Treg细胞的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1100-1106

- Xu HT, Xing TJ, Li H, Ye J. Association of T regulatory cells with natural course and response to treatment with interferon- α in patients with chronic hepatitis B infection. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 1465-1468 [PMID: 22613654]
- 张慧, 黄丽霞, 陈朝霞, 宋文剑. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg细胞在HBV感染所致慢加急性肝衰竭中作用. *东南大学学报(医学版)* 2011; 30: 315-318
- 杨宜娥, 索翠萍, 邵贝贝. 外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞和血浆TGF- β 在慢性HBV感染者中的表达及意义. *医学检验与临床* 2011; 22: 21-24
- 吴小飞, 王华雨, 杨爱平, 周宝勤, 汤伟. 慢性乙型肝炎患者血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞检测的临床意义. *中国医药* 2011; 6: 1198-1200
- 程媛, 金晓芝, 叶超, 陈永平, 章圣辉, 洪伟龙, 谷甸娜, 张磊, 郑明华. 慢性乙型肝炎患者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞数量与肝脏疾病慢性化进展关系的研究. *医学研究杂志* 2011; 40: 50-55
- 赵爽, 孙均, 周培培, 徐娟, 颜学兵. HBV持续感染者调节性T细胞检测及其意义. *徐州医学院学报* 2010; 30: 652-654
- 王玉辉. 乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞水平与HBV病毒载量相关性. *中国热带医学* 2010; 10: 15-16
- 谭雨龙. 乙肝病毒感染者外周血中CD4⁺Foxp3⁺T细胞亚群的表达及临床意义研究. 重庆: 第三军医大学, 2010
- 吕峰, 邵玉峰, 崔明芳, 张振华, 尹华发. 慢性HBV感染者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达及其临床意义. *实用肝脏病杂志* 2010; 13: 13-15
- 李浩, 徐洪涛, 邢同京, 咸建春, 叶军, 张立新. HBV感染者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达水平及临床意义. *肝脏* 2010; 15: 174-176
- 丛丽媛, 李爱民, 吴庆军, 李芸, 杨海燕, 谢锐姬, 杨富强. 慢性乙型肝炎病毒感染细胞免疫功能与血清HBV DNA的关系. *传染病信息* 2010; 23: 218-220
- Zhang Y, Lian JQ, Huang CX, Wang JP, Wei X, Nan XP, Yu HT, Jiang LL, Wang XQ, Zhuang Y, Li XH, Li Y, Wang PZ, Robek MD, Bai XF. Overexpression of Toll-like receptor 2/4 on monocytes modulates the activities of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in chronic hepatitis B virus infection. *Virology* 2010; 397: 34-42 [PMID: 19945134]
- Deng M, Li MH, Liu SA, Liu F, Sang Y, Song SJ, Zang SF, Guan XP, Yao X, Wu XP, Cheng J, Xu DZ. [Studies about the level of CD4⁺CD25⁺ regulatory

- T cells and relation between expression of Foxp3 and CD127 in peripheral blood of chronic HBV infection]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2010; 24: 21-23 [PMID: 20848841]
- 17 马艳品. 慢性乙型肝炎免疫应答及抗病毒治疗对免疫功能的影响. 河北: 河北医科大学, 2009
- 18 Yang GL, Xu LM, Yao HY, Wang HS, Jiang XL, Li W, Wang M, Zhou BP. [Association between CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells and serum transforming growth factor beta 1 in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 831-834 [PMID: 19958642]
- 19 詹爱琴. 乙型肝炎病毒感染外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达的初步研究. 新疆: 石河子大学, 2008
- 20 刘清泉, 洪沙, 徐哲, 王进, 王平忠, 黄长彤. 慢性HBV感染者外周血CD4⁺CD25^{high}调节性T细胞初步分析. *中华微生物学和免疫学杂志* 2008; 28: 885-890
- 21 周正仕, 张伦理. CD4⁺CD25⁺调节性T细胞在重型乙型肝炎发病中的作用. *浙江临床医学* 2007; 9: 1014-1015
- 22 乐晓华, 杨桂林, 陈心春, 王敏, 李美忠, 李丽雄, 陈凤永. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性T细胞与慢性乙型肝炎病毒感染感染的关系. *中国基层医药* 2007; 14: 776-778
- 23 Tian Y, Qiu ZF, Li TS. The difference and significance of peripheral blood regulatory t cells in patients with symptomatic chronic hepatitis b, asymptomatic hbv carriers and acute self-limiting hbv infection. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology* 2007; 27: 831-834
- 24 Shen JH, Li N, Fan XG: Significance of CD4⁺CD25⁺ regulatory t cells in peripheral blood of chronic hepatitis b patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15: 2790-2795
- 25 杨桂林. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性T细胞异常与乙型肝炎慢性化和病毒清除的关系. 上海: 上海交通大学, 2006
- 26 邢同京. 调节性T细胞及单核细胞在乙型肝炎重型化机制中的作用. 浙江: 浙江大学, 2006

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

内毒素和前列腺素I₂/血栓素A₂与1型肝肾综合征的关系

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星

■背景资料

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是慢性重型肝病和肝硬化并发的最常见的功能性肾损伤疾病, 其1年和5年的发病率为18%和40%。HRS包括1型和2型, 1型HRS表现为急性进行性肾功能衰竭, 除肝移植或肝肾联合移植外尚无有效的治疗方法, 患者平均生存时间仅为2 wk。

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
杨正兵, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041
黄华兰, 硕士, 主要从事肝肾疾病的发病机制研究。
四川省科技支撑基金资助项目, No. 2010SZ0252
作者贡献分布: 此课题由李贵星设计; 研究过程由黄华兰、聂鑫、吴斌及贺勇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋昊岚、罗通行及高宝秀提供; 数据分析由李贵星、杨正兵、黄华兰及聂鑫完成; 本论文写作由黄华兰与聂鑫共同完成。
通讯作者: 李贵星, 副教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科。liguixing27@163.com
电话: 028-85422615
收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-05
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-10-18

Relationship between serum levels of endotoxin and PGI₂/TXA₂ and hepatorenal syndrome

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Yong He, Bin Wu, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Zheng-Bing Yang, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Yong He, Bin Wu, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Zheng-Bing Yang, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: the Supporting Program of the Ministry of Science and Technology of Sichuan Province, No. 2010SZ0252

Correspondence to: Gui-Xing Li, Associate Professor, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxue Xiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. liguixing27@163.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-05
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To explore the relationship between serum levels of endotoxin and prostaglandin I₂ (PGI₂)/thromboxane A₂ (TXA₂) and development of hepatorenal syndrome (HRS) by analyzing clinical data, routine laboratory parameters, rate of infection, serum levels of procalcitonin (PCT), PGI₂ and TXA₂ in cirrhotic patients with ascites and type 1 HRS.

METHODS: Thirty-eight cirrhotic inpatients with ascites and type 1 HRS and 41 cirrhotic

inpatients with ascites but normal renal function, who were treated at our hospital between January 2009 and December 2011, were enrolled and divided into a HRS group and a non-HRS group, respectively. Clinical data, cirrhosis etiology, rate and type of infections, Child-Pugh classification, model for end-stage liver disease (MELD) score, systemic inflammatory response (SIRS) score and mean arterial pressure (MAP) were recorded. Blood samples were obtained for laboratory analysis of liver function, renal function, electrolytes, PCT, PGI₂ and TXA₂. All the data were compared between the two groups, and correlation between PCT and PGI₂/TXA₂ was analyzed in the HRS group.

RESULTS: Rate of infection, SIRS score, serum levels of PCT and TXA₂ were significantly higher in the HRS group than in the non-HRS group [73.6% vs 29.2%, 2.1 ± 1.1 vs 0.6 ± 0.6, 8.72 (3.14, 31.68) ng/mL vs 0.11 (0.04, 0.45) ng/mL, 7432 pg/mL ± 2186 pg/mL vs 5064 pg/mL ± 2007 pg/mL; all *P* < 0.05], while serum levels of PGI₂/TXA₂ were significantly lower in the HRS group (4.79 ± 1.58 vs 7.47 ± 2.36, *t* = 2.26, *P* < 0.05). Age, gender, cause of the disease, Child-Pugh classification, and PGI₂ levels did not differ significantly between the two groups (all *P* > 0.05). In the HRS group, serum levels of PCT and PGI₂/TXA₂ showed a significant negative correlation (*r* = -0.64, *P* < 0.05).

CONCLUSION: Cirrhotic patients are prone to develop endotoxemia and PGI₂/TXA₂ imbalance. Elevated endotoxin and decreased PGI₂/TXA₂ are closely associated with the development of HRS.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endotoxin; Prostaglandin I₂; Thromboxane A₂; Hepatorenal syndrome

Huang HL, Nie X, He Y, Wu B, Song HL, Luo TX, Yang ZB, Gao BX, Li GX. Relationship between serum levels of endotoxin and PGI₂/TXA₂ and hepatorenal syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3132-3138
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3132.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3132>

■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

摘要

目的: 通过分析肝硬化腹水伴I型肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)患者的临床资料、实验室指标、感染发生率、血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、前列腺素I₂(prostaglandin I₂, PGI₂)、血栓素A₂(thromboxane A₂, TXA₂), 探讨血清内毒素、PGI₂/TXA₂水平与HRS发生的关系。

方法: 纳入我院2009-01/2011-12住院的肝硬化腹水伴1型HRS患者38例(HRS组)及肝硬化腹水但肾功能正常患者38例(非HRS组), 收集两组患者的一般资料、肝硬化病因、感染发生率及类型、Child-pugh分级、全身炎症反应评分(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及平均动脉压(mean arterial pressure, MAP); 同时采集两组患者血液, 分析肝肾功能、电解质、PCT、PGI₂、TXA₂水平。比较两组患者的临床资料和检测指标, 并分析HRS组PCT水平与PGI₂/TXA₂的相关性。

结果: HRS组的感染发生率、SIRS评分、PCT、TXA₂分别为73.6%、2.1±1.1、8.72 ng/mL(3.14 ng/mL, 31.68 ng/mL)、7432 pg/mL±2186 pg/mL, 高于非HRS组的29.2%、0.6±0.6、0.11 ng/mL(0.04 ng/mL, 0.45 ng/mL)、5064 pg/mL±2007 pg/mL(χ^2 值、 t 值或 H 值分别为11.91, 5.64, 81, 2.38, $P<0.05$); HRS组PGI₂/TXA₂为4.79±1.58, 低于非HRS组的7.47±2.36(t 值2.26, $P<0.05$); 两组间年龄、性别、肝硬化病因、Child-Pugh分级和PGI₂水平差异无统计学意义($P>0.05$)。HRS组PCT与PGI₂/TXA₂呈负相关关系($r=-0.64$, $P<0.05$)。

结论: 内毒素可能诱导花生四烯酸类物质的异常表达, 引起PGI₂/TXA₂平衡紊乱导致肾血管舒张/收缩平衡失衡导致1型HRS发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内毒素; 前列腺素I₂; 血栓素A₂; 肝肾综合征

核心提示: 内毒素可能诱导花生四烯酸类物质的异常表达, 引起花生四烯酸代谢产物前列腺素I₂(prostaglandin I₂)和血栓素A₂(thromboxane A₂)平衡紊乱导致肾血管舒张/收缩平衡失衡导致1型肝肾综合征(hepatorenal syndrome)发生。

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星. 内毒素和前列腺素I₂/血栓素A₂与1型肝肾综合征的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3132-3138 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3132.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3132>

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是慢性重型肝病和肝硬化并发的最常见的功能性肾损伤疾病^[1,2], 其1年和5年的发病率为18%和40%。HRS包括1型和2型, 1型HRS表现为急性肾功能衰竭, 除肝移植或肝肾联合移植外尚无有效的治疗方法, 患者平均生存时间仅为2 wk。HRS的发病机制尚未明了, 相关因素包括门脉高压、内脏血管扩张、肾脏血管收缩等因素。基于传统的“内脏血管扩张理论”在临床治疗中效果不佳, 作者前期研究也发现去除血液中一氧化氮(NO)仍不能改善患者的肾功能^[3]。近来国内外研究认为1型HRS属于急性肾损伤(acute kidney injury, AKI), 其发生和肾血管舒张和收缩平衡失调有关^[4]。花生四烯酸代谢产物前列腺素I₂(prostaglandin I₂, PGI₂)和血栓素A₂(thromboxane A₂, TXA₂)是体内维持血管舒张和收缩平衡的一对主要活性分子。作者前期研究发现HRS患者存在内毒素血症^[5], 而国外研究认为^[6]内毒素可诱导环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 通过调节花生四烯酸代谢, 从而改变PGI₂和TXA₂水平。为探讨内毒素、PGI₂和TXA₂与HRS发生的关系, 本文通过对1型HRS患者的临床资料、感染发生率、降钙素原(procalcitonin, PCT)、PGI₂、TXA₂及实验室指标进行分析, 探讨内毒素及PGI₂/TXA₂在HRS发生中的作用, 为HRS的预防和治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 纳入对象为我院2009-01/2011-12住院的肝硬化腹水伴1型HRS患者38例(HRS组)。肝硬化诊断以病史、体格检查和实验室检查综合诊断, 腹水确诊以B超检查为准, 1型HRS诊断标准符合《国际腹水研究小组肝肾综合征诊断标准》^[7], 同时满足48 h血肌酐水平升高超过50%。排除标准为经病史、X线、心电图、超声心动图和实验室检查有原发性肾病、原发心脏病的肝硬化患者, 并排除消化道出血的患者。为保证研究的一致性, 对照组选取同期连续入院的肝硬化伴腹水且肾功能正常患者共41例(非HRS组)。

1.2 方法 肝硬化腹水患者入院后, 经实验室检查和临床评价排除有原发肾病、原发心脏病和消化道有出血的肝硬化患者, 纳入的研究对象按内科标准化治疗方案进行治疗, 同时密切追踪观察患者, 当患者出现肾功能障碍并符合

■研究前沿

近来国内外研究认为1型HRS属于急性肾损伤, 其发生和肾血管舒张和收缩平衡失调有关。

■相关报道

作者前期研究发现HRS患者存在内毒素血症,而国外研究认为内毒素可诱导环氧合酶-2的表达,通过调节花生四烯酸代谢,从而改变PGI₂和TXA₂水平。

1型HRS诊断时,记录患者心率、呼吸频率和体温,计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分,并依据患者临床表现和细菌培养确定是否有感染以及感染的类型包括肺部感染、胆道感染、自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)以及其他不明原因的感染,肺部感染诊断依据患者病史、症状、体征以及影像学检查结果。胆道感染诊断标准^[8]为:出现腹痛、寒战、高热等临床症状,实验室检查示白细胞计数(white blood cell, WBC)计数显著升高和肝功能损害,经超声和/或CT检查而明确诊断;伴有低血压、意识障碍、氧合指数<300、国际标准化比值>1.5及少尿。SBP的诊断标准为:(1)不同程度的发热、腹痛、腹胀;(2)腹部张力增高,压痛、反跳痛;(3)腹水量迅速增多,利尿效果差;(4)腹水检查WBC $\geq 250 \times 10^6/L$ 或多核中性粒细胞比例 $\geq 50\%$,血常规WBC总数或中性粒细胞分类升高;(5)腹水培养发现致病菌;(6)排除腹腔继发性感染。第5条为确诊标准,1-4条中有2条符合即可作为临床诊断。同时采集患者4管空腹静脉血,包括2管无添加剂管、1管枸橼酸钠抗凝管和1管EDTA抗凝管。对照组记录临床资料并采集4管空腹静脉血进行相关分析。在本研究中,用PCT水平反映患者血液内毒素水平。无添加剂管以3000 r/min离心15 min,血清用于肝功能指标,包括丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL);肾功能指标,包括尿素(Urea)、肌酐(creatinine, Crea),半胱氨酸蛋白酶抑制剂(cystatin C, Cys. C);电解质,包括血清钠(sodium, Na)、钾(potassium, K)、氯(chlorine, Cl)分析;EDTA抗凝全血用于血常规分析。另一无添加剂管以3000 r/min离心15 min,分离血清置-20℃冰冻保存,用于PCT、PGI₂、TXA₂分析。肝肾功能指标、电解质指标检测采用德国罗氏公司Modular-P800全自动生化分析仪及配套试剂和校准品进行测定;血常规采用日本Sysmex XE 2100全自动血液分析仪及其配套试剂和校准品进行测定;PCT采用德国Roche公司 Cobas E170化学发光分析仪及其配套试剂和校准品进行测定;PGI₂和TXA₂极不稳定,两者降解成等分子稳定的6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂,本研究测定血6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂代表血PGI₂和TXA₂水平,6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂测定用ELISH方法,分析试

剂采用美国Enzo公司产品。本实验室通过美国病理学家协会(College of American Pathology, CAP)实验室认可,所有分析指标均通过美国病理学家协会的能力验证。

统计学处理 采用SPASS13.0统计软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验,正态分布计量资料mean \pm SD表示,组间比较采用成组资料的 t 检验;相关性分析采用Person积矩相关分析;非正态分布计量资料采用中位数(P25, P75)表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 HRS组中男30例,女8例,平均年龄(60 \pm 13)岁。HRS组和非HRS组一般资料比较(表1)。表1结果显示:两组的年龄、性别、肝硬化病因、child-pugh分级差异无统计学意义(t 或 χ^2 分别为0.74, 0.03, 0.18, 0.89, $P>0.05$)。HRS组感染发生率为73.6%,高于非HRS组的29.2%($\chi^2 = 11.91$, $P<0.05$);HRS组的SIRS评分为 2.1 ± 1.1 ,高于非HRS组的 0.6 ± 0.6 ($t = 5.64$, $P<0.05$)。

2.2 HRS组和非HRS组实验室指标分析 两组实验指标测定结果(表2)。表2结果显示: HRS组血清Urea、Crea、Cys. C及K水平分别为 $29.9 \text{ mmol/L} \pm 11.1 \text{ mmol/L}$ 、 $417.1 \mu\text{mol/L} \pm 97.4 \mu\text{mol/L}$ 、 $3.5 \text{ mg/L} \pm 1.2 \text{ mg/L}$ 和 $4.78 \text{ mmol/L} \pm 0.89 \text{ mmol/L}$,明显高于非HRS组的 $4.6 \text{ mmol/L} \pm 1.0 \text{ mmol/L}$ 、 $69.2 \mu\text{mol/L} \pm 10.3 \mu\text{mol/L}$ 、 $1.2 \text{ mg/L} \pm 0.5 \text{ mg/L}$ 和 $3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.38 \text{ mmol/L}$ (t 值分别为12.80、20.10、7.45、4.82, $P<0.05$),而HRS组的Na、Cl水平为 $127.9 \text{ mmol/L} \pm 6.5 \text{ mmol/L}$ 和 $91.8 \text{ mmol/L} \pm 6.7 \text{ mmol/L}$,明显低于非HRS组的 $140.3 \text{ mmol/L} \pm 2.3 \text{ mmol/L}$ 和 $105.1 \text{ mmol/L} \pm 3.7 \text{ mmol/L}$ (t 值分别为8.58、8.34, $P<0.05$),两组间ALT、AST、TBIL、DBIL差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 HRS组和非HRS组PCT水平分析 HRS组的PCT水平为 8.72 ng/mL (3.14 ng/mL , 31.68 ng/mL),显著高于非HRS组的 0.11 ng/mL (0.04 ng/mL , 0.45 ng/mL) ($H = 81$, $P<0.01$)。

2.4 HRS组与病例对照组PGI₂和TXA₂水平分析 按Enzo公司的试剂说明书分析两组的6-keto-PGF_{1 α} (PGI₂)和TXB₂(TXA₂),结果(表3)。表3结果显示:两组PGI₂水平差异无统计学意义($t = 1.20$, $P>0.05$),HRS组TXA₂水平高于非HRS组($t = 2.38$, $P<0.05$),而PGI₂/TXA₂水平低于非HRS组(t

表 1 肝肾综合征组与非肝肾综合征组一般资料比较

分组	HRS组	非HRS组	χ^2 或 t	P 值
n	38	41		
年龄(岁)	60 ± 13	58 ± 14	0.74	0.46
性别			0.03	0.86
男	30	33		
女	8	8		
肝硬化病因			0.18	0.67
HBV	32	34		
HCV	2	4		
原发性胆汁性肝硬化	2	2		
酒精性肝硬化	2	1		
child-pugh分级			0.89	0.477
B	11	16		
C	27	25		
感染率 n (%)	73.6%	29.2%	11.91	0.01 ^a
肺部感染	11(28.9)	6(14.6)		
SBP	9(23.6)	3(7.3)		
胆道感染	6(15.7)	2(4.9)		
原因不明	2(5.4)	1(2.5)		
无感染	10(26.4)	29(70.8)		
SIRS评分	2.1 ± 1.1	0.6 ± 0.6	5.64	0.00 ^c
体温(°C)	37.4 ± 1.4	36.7 ± 0.4	1.02	
呼吸(/min)	23 ± 3	20 ± 1	3.84	
心率(/min)	96 ± 12	81 ± 9	4.56	
WBC($10^9/L$)	13.4 ± 9.2	4.7 ± 2.3	$t = 4.37$	

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 对照组. HRS: 肝肾综合征; HBV: 乙型病毒性肝炎; HCV: 丙型病毒性肝炎; SBP: 自发性细菌性腹膜炎; WBC: 白细胞.

= 2.29, $P < 0.05$).

2.5 HRS组PCT与PGI₂/TXA₂相关性分析 分析HRS组PCT与PGI₂/TXA₂相关性, 结果为 $r = -0.64$, $P = 0.002$, 表明PCT与PGI₂/TXA₂呈负相关关系.

3 讨论

由于我国肝炎病毒的高感染率以及酒精性肝病不断增加, 导致肝硬化的患病率处于上升的趋势. 肝硬化患者有多种并发症产生, 如HRS、肝性脑病及消化系出血等^[9]. HRS是肝硬化患者最主要最严重的并发症之一, 表现为扩血管物质增加以及多种激素调节失调^[10], 引发肾脏血流灌注减少、肾小球滤过率下降致肾脏功能性衰竭, 其特点为肾前性、功能性损伤^[11]. HRS形成的确切机制并不清楚, 目前主要有两种学说, 即“充盈灌注不足”和“泛溢学说”, 涉及的因素包括门静脉高压、内脏血管扩张、钠水潴留及继发高醛固酮血症等. 英国^[12]、美国^[13]和欧洲^[14]的肝硬化腹水治疗导则中均认为HRS的形成是内

脏血管扩张引起有效血容量降低, 导致肾脏血管强烈收缩从而引发HRS的发生. 但是基于这些理论的治疗方法效果均不理想.

降钙素原是降钙素的前体, 正常情况下由甲状腺C细胞产生, 并在细胞内经过特异性蛋白水解过程生成降钙素, 正常人血清PCT水平低于0.05 ng/mL^[15]. 在内毒素刺激下, 机体多种细胞和器官均可表达PCT, 由于这些细胞缺乏特异性蛋白水解酶, PCT不能降解为CT, 血液中PCT表现为升高, PCT水平可用于反映血液中内毒素水平^[16-18]. 本研究结果显示: HRS组感染发生率、SIRS评分、PCT明显高于非HRS组($P < 0.05$). 肝硬化患者易发生肠源性内毒素血症, 其可能原因有二: 一方面肝脏功能减退及枯否氏细胞数量及功能的降低, 使肝脏清除外来的异物(主要是来至肠道的病原微生物和毒素)的能力低下, 从而易发生感染和内毒素血症; 另一方面, 肝硬化患者因门静脉高压导致胃肠道水肿, 肠道黏膜屏障受损, 同时胃肠蠕动减弱易发生感染并

■创新盘点

感染引发HRS的主要原因可能是内毒素通过调节花生四烯酸代谢引起血管舒张和收缩平衡失衡引起, 不是炎症介质诱导NO合成增加引起.

■应用要点

积极预防感染、保持肠道功能正常减少肠内毒素的产生和吸收,从而阻止内毒素血症的发生,是阻止HRS发生发展的关键。

表 2 肝肾综合征组与非肝肾综合征组肝、肾功能及电解质分析

	HRS组	非HRS组	<i>F</i> 值或 <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	38	41		
ALT(U/L)	44(24,74)	31(17,63)	854	0.24
AST(U/L)	81(39,141)	60(33,89)	268	0.164
TBIL(μ mol/L)	267.23 \pm 48.19	249.14 \pm 67.58	0.57	0.63
DBIL(μ mol/L)	187.38 \pm 57.23	169.24 \pm 29.47	0.73	0.46
Urea(mmol/L)	29.9 \pm 11.1	4.6 \pm 1.0	12.80	0.00 ^a
Crea(μ mol/L)	471.1 \pm 97.4	69.2 \pm 10.3	20.10	0.00 ^a
Cys.C(mg/L)	3.5 \pm 1.2	1.2 \pm 0.5	7.45	0.00 ^a
Na(mmol/L)	127.9 \pm 6.5	140.3 \pm 2.3	8.58	0.00 ^a
K(mmol/L)	4.78 \pm 0.89	3.75 \pm 0.38	4.82	0.00 ^a
Cl(mmol/L)	91.8 \pm 6.7	105.1 \pm 3.7	8.34	0.00 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。HRS: 肝肾综合征; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素。

表 3 肝肾综合征组与非肝肾综合征组6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂分析

	HRS组	非HRS组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	38	41		
6-keto-PGF _{1α} (PGI ₂)(pg/mL)	32517 \pm 6023	29642 \pm 3343	1.20	0.25 ^a
TXB ₂ (TXA ₂)(pg/mL)	7432 \pm 2186	5064 \pm 2007	2.38	0.029 ^a
PGI ₂ /TXA ₂	4.79 \pm 1.58	7.47 \pm 2.36	2.26	0.037 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。HRS: 肝肾综合征; PGI₂: 花生四烯酸代谢产物前列腺素; TXA₂: 血栓素A₂。

产生大量内毒素,肠道内细菌及内毒素发生移位导致感染和内毒素血症。本研究中HRS组的PCT平均水平超过2 ng/mL,表明确实存在内毒素血症。符合脓毒血症的范畴;同时HRS患者组SIRS评分平均值为2.1 \pm 1.1,超过2的水平,表明HRS组患者存在全身炎症反应。

PGI₂和TXA₂属于前列腺素类因子,均来源于花生四烯酸代谢产物,在体内经过一系列的酶促反应生成,PGI₂具有舒张肾脏血管的作用,而TXA₂具有收缩肾血管作用,PGI₂和TXA₂是体内一对主要的维持血管舒张和收缩平衡的活性分子^[19,20],其受体在肾脏系膜细胞和平滑肌细胞广泛存在,正常情况下PGI₂/TXA₂水平维持动态平衡。文献报道^[21,22]认为内毒素通过诱导COX-2等花生四烯酸代谢酶的活性进而影响PGI₂和TXA₂的生成。本研究结果显示:HRS组TXA₂水平高于非HRS组(*P*<0.05),PGI₂水平在两组间无差异(*P*>0.05),而PGI₂/TXA₂水平低于对照组(*P*<0.05),即HRS组血管舒张和收缩能力失

衡,表现为收缩血管能力增强,使肾灌注不足引发HRS发生。同时,HRS组PCT与PGI₂/TXA₂水平呈负相关关系(*P*<0.05),表明内毒素可能参与了花生四烯酸代谢。有研究认为^[23,24]肝硬化患者发生HRS的可能原因与感染引发细胞因子、肿瘤坏死因子及白细胞介素等炎性介质释放有关,他们引起内皮细胞合成NO增加,扩张内脏血管,使有效血容量不足,导致HRS发生。作者前期研究^[3]发现NO并不是引发HRS的关键因素,与国外的研究结果一致^[25]。通过本研究,作者认为感染引发HRS的主要原因可能是内毒素通过调节花生四烯酸代谢引起血管舒张和收缩平衡失衡引起,不是炎症介质诱导NO合成增加引起。

另外,值得注意的是HRS组血Na水平明显低于非HRS组(*P*<0.05)。在我们的前期研究中已发现低钠血症与HRS关系密切^[26],其可能的机制是低钠血症激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,肾素、血管紧张素及醛固酮具有强烈的肾动脉收缩作用,从而引发HRS发生。低钠血症在HRS发

生中作用需要进一步的研究。

通过本研究, 结合国内外的文献, 作者认为: 肝硬化患者易发生感染和内毒素血症, 内毒素通过影响花生四烯酸代谢, 导致PGI₂和TXA₂合成异常, 使肾系膜细胞和平滑肌细胞过度收缩, 肾脏灌注不足从而引发HRS。因此, 一方面积极预防和治疗感染减少内毒素的产生; 另一方面通过酸化肠道等方法增强肠蠕动, 保持肠道通畅降低肠源性内毒素的产生和吸收是阻止HRS发生发展的关键, 同时深入研究内毒素调节花生四烯酸代谢的详细机制, 早日揭开HRS的发生机制, 为HRS的预防和治疗提供理论依据。

4 参考文献

- Wong F. Hepatorenal syndrome: current management. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 22-29 [PMID: 18417039]
- Angeli P, Merkel C. Pathogenesis and management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S93-103 [PMID: 18304678 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.010]
- 李贵星, 贺勇, 罗通行, 高宝秀, 聂鑫, 余萍, 张焕强. 一氧化氮水平、低钠血症和心功能对肝肾综合征发病的影响. *中华医学杂志* 2011; 91: 2534-2537
- 郭莲怡, 刘沛. 肝肾综合征肾血管收缩机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 982-986
- 张焕强, 聂鑫, 吴斌, 宋昊岚, 高宝秀, 罗通行, 胥劲, 李贵星. 内毒素血症与肝肾综合征的关系研究. *实用肝脏病杂志* 2012; 15: 539-541.
- Font-Nieves M, Sans-Fons MG, Gorina R, Bonfill-Teixidor E, Salas-Pédomo A, Márquez-Kisinousky L, Santalucia T, Planas AM. Induction of COX-2 enzyme and down-regulation of COX-1 expression by lipopolysaccharide (LPS) control prostaglandin E2 production in astrocytes. *J Biol Chem* 2012; 287: 6454-6468 [PMID: 22219191 DOI: 10.1074/jbc.M111.327874]
- Salerno F, Gerbes A, Ginès P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007; 56: 1310-1318 [PMID: 17389705 DOI: 10.1136/gut.2006.107789]
- 华医学会外科学分会胆道外科学组. 急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版). *中华消化外科杂志* 2011; 10: 9-13
- García-Pagán JC, Caca K, Bureau C, Laleman W, Appenrodt B, Luca A, Abalde JG, Nevens F, Vinel JP, Mössner J, Bosch J. Early use of TIPS in patients with cirrhosis and variceal bleeding. *N Engl J Med* 2010; 362: 2370-2379 [PMID: 20573925 DOI: 10.1056/NEJMoa0910102]
- Cárdenas A, Gines P. Hepatorenal syndrome. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 371-385, ix-x [PMID: 16971267 DOI: 10.1016/j.cld.2006.05.006]
- Krag A, Bendtsen F, Henriksen JH, Møller S. Low cardiac output predicts development of hepatorenal syndrome and survival in patients with cirrhosis and ascites. *Gut* 2010; 59: 105-110 [PMID: 19837678 DOI: 10.1136/gut.2009.180570]
- Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006; 55 Suppl 6: vi1-v12 [PMID: 16966752 DOI: 10.1136/gut.2006.099580]
- Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- . EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 397-417 [PMID: 20633946 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.004]
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 396-402 [PMID: 11500339 DOI: 10.1164/ajrccm.164.3.2009052]
- Zannoni A, Giunti M, Bernardini C, Gentilini F, Zaniboni A, Bacci ML, Forni M. Procalcitonin gene expression after LPS stimulation in the porcine animal model. *Res Vet Sci* 2012; 93: 921-927 [PMID: 22001598 DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.011]
- Endo S, Aikawa N, Fujishima S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, Kushimoto S, Yukioka H, Kato N, Totsuka K, Kikuchi K, Ikeda T, Ikeda K, Yamada H, Harada K, Satomura S. Usefulness of procalcitonin serum level for the discrimination of severe sepsis from sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2008; 14: 244-249 [PMID: 18574663 DOI: 10.1007/s10156-008-0608-1]
- de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, Elliott PJ, van der Poll T. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med* 2008; 34: 518-522 [PMID: 18080111 DOI: 10.1007/s00134-007-0955-x]
- Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 986-1000 [PMID: 21508345 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.207449]
- Britt RD, Locy ML, Tipple TE, Nelin LD, Rogers LK. Lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse transformed Clara cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 213-222 [PMID: 22415090 DOI: 10.1159/000337602]
- Shoeb M, Yadav UC, Srivastava SK, Ramana KV. Inhibition of aldose reductase prevents endotoxin-induced inflammation by regulating the arachidonic acid pathway in murine macrophages. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 1686-1696 [PMID: 21856412 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.07.024]
- Mackelaite L, Alsauskas ZC, Ranganna K. Renal failure in patients with cirrhosis. *Med Clin North Am* 2009; 93: 855-69, viii [PMID: 19577118 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.03.003]
- Turban S, Thuluvath PJ, Atta MG. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4046-4055 [PMID: 17696221]
- Thabut D, Massard J, Gangloff A, Carbonell N, Francoz C, Nguyen-Khac E, Duhamel C, Lebre C, Poynard T, Moreau R. Model for end-stage liver disease score and systemic inflammatory response are major prognostic factors in patients with cirrhosis and acute functional renal failure. *Hepatology* 2007; 46: 1872-1882 [PMID: 17972337 DOI: 10.1002/hep.21920]
- Wong F, Raina N, Richardson R. Molecular ad-

■同行评价

本文学术水平较高, 具有临床治疗应用指导意义。

sorbent recirculating system is ineffective in the management of type 1 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis with ascites who have failed vasoconstrictor treatment. *Gut* 2010; 59: 381-386

[PMID: 19710033 DOI: 10.1136/gut.2008.174615]
26 宋昊岚, 贺勇, 聂鑫, 吴斌, 罗通行, 高宝秀, 张国富, 李贵星. 重度低钠血症与肝肾综合征的关系研究. *实用医学杂志* 2012; 28: 3582-3584

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪, 扬州大学临床医学院附属医院消化内科 江苏省苏北人民医院 江苏省扬州市 225001

陈莉丽, 医师, 主要从事胆胰疾病及反流性食管炎方面的研究。

作者贡献分布: 课题设计由陈超伍、邓登豪及卜平设计; 病历收集由陈超伍与刘军收集; 数据分析由陈莉丽与陈娟统计; 论文由陈莉丽撰写。

通讯作者: 邓登豪, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市南通西路 98号, 扬州大学临床医学院附属医院消化内科, 江苏省苏北人民医院. dengdenghao@medmail.com.cn

电话: 0514-87373275

收稿日期: 2013-07-13 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct

Li-Li Chen, Ping Bu, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Juan Chen, Deng-Hao Deng

Li-Li Chen, Ping Bu, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Juan Chen, Deng-Hao Deng, Department of Gastrointestinal Medicine, Subei People's Hospital of Jiangsu Province; Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Deng-Hao Deng, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Medicine, Subei People's Hospital of Jiangsu Province; Clinical Medical College of Yangzhou University, 98 Nantong West Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. dengdenghao@medmail.com.cn

Received: 2013-07-13 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To assess the application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in patients with incarcerated stones in the upper or middle segment of the common bile duct.

METHODS: Clinical data for 15 patients with incarcerated stones in the upper or middle segment of the common bile duct who underwent radiography-assisted guidewire insertion in

ERCP at our hospital from June 2005 to January 2012 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Radiography was successful in all 15 patients, and the guidewire went through the incarcerated stones in each patient. After ERCP, one patient developed acute pancreatitis and hyperamylasemia but recovered after receiving medical treatment for 2-5 d. No bleeding or perforation occurred.

CONCLUSION: Balloon suction radiography-assisted guidewire insertion can reduce operative time and improve the success rate and safety in patients with incarcerated stones in the common bile duct.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Balloon suction radiography; Incarcerated stones

Chen LL, Bu P, Chen CW, Liu J, Chen J, Deng DH. Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3139-3141 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3139>

摘要

目的: 探讨取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)胆管中上段结石嵌顿中的应用。

方法: 回顾性分析2005-06/2012-01我院收治的15例ERCP术中发现胆管结石嵌顿于胆管中上段的患者临床资料,我们创新运用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入。

结果: 本组患者中, ERCP造影成功率为100%(15/15), 皆成功将导丝越过嵌顿结石, 术

■背景资料

随着内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)技术广泛应用于胆胰疾病的诊断和治疗, 而在取石过程中常容易遇到困难, 尤其有结石嵌顿在胆管中上段, 导丝无法越过结石时, 容易导致操作时间过长, 并发症增多或者取石失败。

■同行评议者

刘超, 教授, 主任医师, 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

■研发前沿

我们创新使用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入,提高了ERCP成功率,缩短了操作时间,减少了并发症。

后发生胰腺炎1例,高淀粉酶血症,保守治疗2-5 d后痊愈,未发生出血和穿孔并发症。

结论: 取石球囊负压吸引法辅助导丝插入在合并胆管中上段结石嵌顿的患者中简单易行,提高成功率,减少操作时间,是一种安全有效的操作方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内镜逆行胰胆管造影术; 球囊负压吸引造影法; 结石嵌顿

核心提示: 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入法能够提高插管成功率和取石成功率。

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪. 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3139-3141 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3139>

0 引言

随着内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)技术广泛应用于胆胰疾病的诊断和治疗,而在取石过程中常遇到困难,尤其有结石嵌顿在胆管中上段,导丝无法越过结石时,容易导致操作时间过长,并发症增多或者取石失败。我们创新使用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入,提高了ERCP成功率,缩短了操作时间,减少了并发症。本研究回顾性分析2005-06/2012-01我科收治的15例ERCP术中发现胆管结石嵌顿于胆管中上段的患者临床资料,探讨对于胆管中上段嵌顿结石使用改进导丝插入方法(取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入)在ERCP操作中的应用。

1 材料和方法

1.1 材料 我科2005-06/2012-01间行ERCP的患者中,ERCP术中发现结石嵌顿于胆管中上段患者15例,男9例,女6例;年龄39-79岁,中位年龄63岁。ERCP检查前皆行B超或磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP),临床诊断为胆总管结石15例,直径>1.5 cm 2例,1.2-1.5 cm 8例,<1.2 cm 5例;单枚结石10例,2枚结石3例,多枚结石2例;其中合并胆管炎8例,急性胰腺炎1例。

1.2 方法 应用Olympus-TJF260或者Olympus-JF240电子十二指肠镜检查。患者取左侧俯卧位,

采用拉直法进镜,在导丝引导下进行选择性插管,直至进入胆管。插管造影成功后,如发现结石嵌顿在胆总管中上段,通过推拉镜身拉直胆管、调整插管方向插入导丝,如仍无法使导丝越过结石,在导丝引导下将取石球囊插至结石下方,充气至胆管相应直径,在外拉气囊的同时,注射造影剂,同时尝试导丝插入,直至导丝越过结石,留置导丝予以乳头括约肌切开,或行柱状气囊扩张乳头至相应直径,采用球囊和/或网篮取尽结石。如结石较大无法取出,可予以碎石网篮碎石或者予以导丝引导下置入圣诞树支架。术中常规予以鼻胆管引流。

2 结果

本组15例胆管中上段结石嵌顿患者ERCP插管成功率为100%(15/15),皆通过取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入成功将导丝越过嵌顿结石。15例患者均进行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗,乳头行小至中切口,部分患者根据结石情况给予柱状气囊扩张。其中1例予以碎石网篮碎石后取出,1例结石过大,考虑取石困难,给予放置胆管塑料支架;其余成功取石,术后均给予留置经鼻胆管1-3 d后拔除鼻胆管。手术时间<15 min 6例,15-30 min 6例,>30 min 3例,平均操作时间25.2 min,ERCP术后发生胰腺炎1例,胆管炎1例,行保守治疗3-5 d后痊愈,未发生出血或穿孔等严重并发症,无死亡病例。

3 讨论

导丝作为ERCP中常用器械之一,在ERCP中发挥越来越重要的作用,成为ERCP术中的“生命线”,在导丝引导下可进行乳头插管、插入弓形刀、球囊清理、碎石、放置鼻胆管等大部分ERCP的常规操作,同时可以减少术后胰腺炎、高淀粉酶血症、穿孔、出血等并发症^[1-4],但在合并胆管中上段结石嵌顿的情况下,导丝有时无法越过结石而导致其他操作无法完成,最终导致操作失败。此时可通过推拉镜身拉直胆道、调整弓形刀深度来调整插导丝方向,如结石嵌顿较紧,则仍不能成功,从而导致操作时间延长,容易合并胆道出血、穿孔、术后胰腺炎、高淀粉酶血症等并发症。

本组所有病例皆短时间内顺利将导丝越过嵌顿结石,从而进行常规取石及支架置入术,术后无穿孔和出血等严重并发症。这主要得益于

插管时我们运用球囊负压吸引法辅助导丝插入的方法, 这种方法以往未见报道. 该法可以显著提高中上段胆管结石嵌顿的操作成功率.

我们的体会如下: 首先常规乳头插管, 胆道造影, 如发现结石位于胆管中上段, 且造影时无明显移动, 予以常规导丝插入不能越过, 通过推拉镜身拉直胆道、调整弓形刀深度来调整插导丝方向, 如仍不能越过结石, 我们在导丝引导下将取石球囊插至结石下方, 充气至胆管相应直径(等于或者略大于胆管直径)同时注入造影剂增加胆管压力, 起到一定扩张胆管作用, 再通过外拉球囊, 产生负压可使结石松动, 同时进行导丝插入, 通过胆管壁与结石之间产生一定空隙, 导丝常能通过, 增加了操作的成功率.

我们认为成功插管的具体机制可能如下: (1)当气囊充气后, 结石下方胆道扩张, 增加了结石松动的可能; (2)同时注入造影增加胆管压力, 起到一定扩张胆管作用, 使胆管壁与结石之间产生一定空隙; (3)外拉气囊, 使得气囊与结石之间形成负压, 导致结石下移; (4)外拉气囊使得胆管变直, 导丝容易沿结石上方插入; (5)导丝在气囊引导下插入, 使得导丝位于胆管中央, 改变了原有的导丝方向.

术后胰腺炎(PEP)或者高淀粉酶血症在插管困难患者中很常见, 相关报道为1.3%-33%左右^[5-9], 本研究中, 总并发症为13.3%(2/15), 术后胰腺炎和高淀粉酶血症的发生率皆为6.7%, 和相关报道的一致. 在ERCP术中, 长时间操作是影响PEP的重要因素, 为术后并发症的独立危险因素^[10-13], 本研究中, 平均ERCP时间为25.2 min, 和冯佳等报道的19.3-35.3 min大致相当^[14,15], 鉴于本组皆为胆管结石梗阻患者, 说明本方法能够一定程度上减少操作时间, 减少术后并发症的发生.

总之, 对结石嵌顿于胆管中上段的患者, 可采取取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入, 简单易行, 提高操作成功率, 减少操作时间, 降低并发症, 是一种安全有效的操作方法.

4 参考文献

1 Lella F, Bagnolo F, Colombo E, Bonassi U. A simple way of avoiding post-ERCP pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 830-834 [PMID: 15173796 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)00363-3]

- 2 Sutton VR, Hong MK, Thomas PR. Using the 4-hour Post-ERCP amylase level to predict post-ERCP pancreatitis. *JOP* 2011; 12: 372-376 [PMID: 21737899]
- 3 Tse F, Yuan Y, Moayyedi P, Leontiadis GI. Guide wire-assisted cannulation for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy* 2013; 45: 605-618 [PMID: 23807804 DOI: 10.1055/s-0032-1326640]
- 4 Belverde B, Frattaroli S, Carbone A, Viceconte G. Double guidewire technique for ERCP in difficult bile cannulation: experience with 121 cases. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 391-393 [PMID: 23064299]
- 5 张筱凤, 张啸. ERCP后高淀粉酶血症和胰腺炎的相关危险因素. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 287-288
- 6 Bailey AA, Bourke MJ, Kaffes AJ, Byth K, Lee EY, Williams SJ. Needle-knife sphincterotomy: factors predicting its use and the relationship with post-ERCP pancreatitis (with video). *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 266-271 [PMID: 20003969 DOI: 10.1016/j.gie.2009.09.024]
- 7 Ito K, Fujita N, Noda Y, Kobayashi G, Horaguchi J, Takasawa O, Obana T. Relationship between post-ERCP pancreatitis and the change of serum amylase level after the procedure. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3855-3860 [PMID: 17657841]
- 8 Abdel Aziz AM, Lehman GA. Pancreatitis after endoscopic retrograde cholangio-pancreatography. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2655-2668 [PMID: 17569133]
- 9 Feurer ME, Adler DG. Post-ERCP pancreatitis: review of current preventive strategies. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 280-286 [PMID: 22450899 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283528e68]
- 10 Ito K, Fujita N, Kanno A, Matsubayashi H, Okaniwa S, Nakahara K, Suzuki K, Enohara R. Risk factors for post-ERCP pancreatitis in high risk patients who have undergone prophylactic pancreatic duct stenting: a multicenter retrospective study. *Intern Med* 2011; 50: 2927-2932 [PMID: 22185981 DOI: 10.2169/internalmedicine.50.6235]
- 11 陈小微, 洪万东, 吴小丽, 黄庆科, 朱启槐. 治疗性ERCP术后胰腺炎危险因素的Logistic回归分析. *实用医学杂志* 2012; 28: 614-615
- 12 Iorgulescu A, Sandu I, Turcu F, Iordache N. Post-ERCP acute pancreatitis and its risk factors. *J Med Life* 2013; 6: 109-113 [PMID: 23599832]
- 13 Swahn F, Nilsson M, Arnelo U, Löhr M, Persson G, Enochsson L. Rendezvous cannulation technique reduces post-ERCP pancreatitis: a prospective nationwide study of 12,718 ERCP procedures. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 552-559 [PMID: 23419386 DOI: 10.1038/ajg.2012.470]
- 14 冯佳, 令狐恩强, 杨云生, 李闻, 蔡逢春, 秦治初. ERCP插管操作模式改变的回顾性分析. *中华消化内镜杂志* 2009; 26: 283-286
- 15 Tammaro S, Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Post-endoscopic retrograde cholangio-pancreatography pancreatitis: is time for a new preventive approach? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4635-4638 [PMID: 23002332 DOI: 10.3748/wjg.v18.i34.4635]

■同行评价

ERCP术中, 中段胆总管结石确实是比较难处理, 本文作者采用自创的取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入法大大提高了插管成功率和取石成功率, 具有一定的创新性和临床的实用价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



阑尾黏液腺癌10例

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民

■背景资料

原发性阑尾恶性肿瘤非常少见, 仅占胃肠道恶性肿瘤的0.4%-1.0%。阑尾黏液腺癌是阑尾恶性肿瘤的主要病理类型。由于其起病隐匿, 无特异表现, 术前临床上很难明确诊断, 多在术中探查发现或经病理检查证实。

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

钟邦华, 医师, 主要从事胃肠相关疾病的研究。

作者贡献分布: 数据收集统计与论文撰写由钟邦华完成; 论文设计、数据审核及论文审阅修改由李昱骥与孔凡民完成; 董明完成最终审阅并提出宝贵意见。

通讯作者: 孔凡民, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北路155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。

kong_fanmin@yahoo.com.cn

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases

Bang-Hua Zhong, Yu-Ji Li, Ming Dong, Fan-Min Kong

Bang-Hua Zhong, Yu-Ji Li, Ming Dong, Fan-Min Kong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Fan-Min Kong, Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Road, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. kong_fanmin@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix.

METHODS: The clinical data for 10 patients with mucous adenocarcinoma of the appendix were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of 10 patients, 8 were diagnosed with a mass in the lower right abdomen (including 4 cases suspected to have mucous neoplasm of the appendix), 1 with appendicitis, and 1 with intestinal intussusception; 7 underwent right hemicolectomy (including 1 case undergoing subsequent right hemicolectomy), 1 underwent cytoreductive surgery, 1 received exploratory lapotomy, and 1 underwent partial cecectomy. The patients were followed for 4 to 66 mo. One

case was lost to follow-up, one patient died, and the remaining 8 cases showed no relapse or metastasis.

CONCLUSION: Combined ultrasonography, CT and colonoscopy are helpful in diagnosing mucous adenocarcinoma of the appendix. A final diagnosis depends on pathology. Right hemicolectomy should be performed once a final diagnosis is made.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mucous adenocarcinoma of the appendix; Right hemicolectomy

Zhong BH, Li YJ, Dong M, Kong FM. Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3142-3145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3142>

摘要

目的: 探讨阑尾黏液腺癌的临床诊断和治疗。

方法: 回顾分析10例阑尾黏液腺癌患者的临床资料。

结果: 10例患者中8例术前诊断为右下腹肿物(其中4例考虑阑尾黏液性肿瘤), 1例诊断为阑尾炎, 1例诊断为肠套叠。7例行右半结肠切除术(其中1例为补充右半结肠切除术); 1例行减瘤术、1例行剖腹探查术; 1例行盲肠部分切除术。随访: 随访时间4-66 mo, 其中1例失访, 1例死亡, 余8例无复发转移。

结论: 术前结合超声、CT、肠镜等有利于阑尾黏液腺癌的诊断, 确诊依赖于术中病理检查。对于明确诊断者行右半结肠切除术, 效果良好。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 阑尾黏液腺癌; 右半结肠切除术

■同行评议者

关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

核心提示: 阑尾切除术多为低年资住院医师完成, 提高对阑尾黏液腺癌的认识, 将有助于减少误诊及漏诊。

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民. 阑尾黏液腺癌10例. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3142-3145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3142>

0 前言

原发性阑尾恶性肿瘤非常少见, 阑尾黏液腺癌是阑尾恶性肿瘤的主要病理类型. 由于其起病隐匿, 无特异表现, 术前临床上很难明确诊断, 多在术中探查发现或经病理检查证实. 我院2007-01/2012-09共收治阑尾黏液腺癌10例, 本文对其临床资料进行了回顾分析.

1 材料和方法

1.1 材料 10例患者中男4例, 女6例, 平均年龄54.6岁. 以右下腹肿物为主诉就诊者8例(80%), 伴右下腹痛者5例(50%). 查体均有不同程度的右下腹固定压痛, 扣及右下腹肿物者8例(80%). 10例患者中行B超检查9例, 仅1例提示阑尾黏液囊肿, 余8例提示右下腹肿物. 行计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查7例, 其中1例提示阑尾肿瘤. 行肠镜检查者3例, 其中2例提示阑尾开口处隆起性病变. 因其中2例患者伴有白细胞及中性粒细胞比例升高, 分别以阑尾炎及肠套叠为诊断入院, 其余8例诊断为腹部肿物, 其中4例考虑阑尾黏液性肿瘤.

1.2 方法 10例患者均行手术治疗, 术中发现9例患者阑尾区肿物(90%), 2例腹腔内胶冻样腹水(20%), 3例阑尾腔内胶冻样物质(30%). 7例患者术中病理证实为黏液腺癌, 其中5例行右半结肠切除术, 1例行单纯阑尾切除及腹腔假黏液瘤切除术, 另1例仅行剖腹探查术. 1例术中病理诊断为阑尾黏液囊肿伴腹膜假黏液瘤形成, 行盲肠部分切除术, 而术后病理报告为阑尾黏液腺癌伴腹膜假黏液瘤形成, 安全缘阴性, 未再次手术. 1例诊断为阑尾炎行阑尾切除术, 术后病理回报为黏液腺癌, 于术后17 d再次行右半结肠切除术. 1例术中诊断为阑尾肿瘤, 行1期右半结肠切除术, 术后病理证实为黏液腺癌. 术后行folfox或xelox化疗者6例, 其中仅1例患者完成全部疗程化疗, 腹腔灌注化疗者1例.

2 结果

10例患者均痊愈出院. 术后随访9例, 随访时间4-66 mo, 平均32.6 mo, 其中1例术后4 mo死亡, 死于非肿瘤性疾病, 余无复发转移, 健康生存.

3 讨论

原发性阑尾恶性肿瘤仅占胃肠道恶性肿瘤的0.4%-1.0%^[1], 包括类癌、腺癌、印戒细胞癌和杯状细胞类癌. 其中腺癌又分为结肠型和黏液型(又称囊性)^[2,3]. 魏振军等^[4]报道黏液腺癌是主要的病理类型. 阑尾黏液腺癌的病因不明确, 好发于中老年, 男女均可发病, 女性略高于男性. 本组报告的同期病例中, 阑尾黏液腺癌占原发性阑尾腺癌的62.5%(10/16), 平均发病年龄54.6岁, 男女比例4:6.

阑尾黏液腺癌临床症状不典型, 主要表现为右下腹疼痛、腹部肿物. 其病理机制为肿瘤导致阑尾管腔狭窄, 腔内分泌物排出受阻, 黏液积聚, 腔内压力增高, 引起右下腹胀痛不适. 肿瘤长大或与周围组织粘连后常形成肿物. 当并发感染, 临床上出现右下腹痛、发热等症状, 因此可被误诊为阑尾炎或阑尾周围脓肿. 当黏液腺癌进一步发展甚至穿孔突破浆膜层, 向腹腔、盆腔内播散转移, 广泛种植在腹盆腔脏器及大小网膜表面, 粘连形成肿块, 或形成大量黏液性腹水, 此临床病变称腹膜假黏液瘤(pseudomyxoma peritonei, PMP), 且有文献^[5]已证实阑尾黏液性肿瘤是导致PMP的主要病因. 此时的临床表现有腹痛、腹胀、腹部肿物、腹水征等. 本组有8例表现为腹部肿物, 占80%; 5例有右下腹疼痛病史, 占50%, 其中1例诊断为“急性阑尾炎”; 2例术中诊断腹膜假黏液瘤.

超声作为首选的检查方法^[6], 可探查到中下腹实性或囊实性肿块及腹水, 因没有明确的诊断标准, 术前很难明确诊断, 当合并感染时容易误诊为阑尾炎^[7]. 张丽敏等^[8]认为阑尾黏液性肿瘤的CT表现有一定的特征性, 表现为: (1) 肿块往往较大, 一般呈分叶状, 囊壁及囊内分隔厚薄不均, 局部可有壁结节向腔内突入, 增强后实质部分呈不均匀中、高密度结节、花环样强化, 囊性部分不强化; (2) 病灶周围脂肪间隙因肿瘤浸润密度增高, 与周围肠道、系膜血管粘连, 并可向腹腔脏器的实质内浸润, 可推压或侵犯盲肠, 致肠壁偏侧性增厚、僵硬. 也有文献报道^[9,10]CT能提示腹膜假性黏液瘤形成. 纤维结肠

■ 研究前沿

阑尾黏液性囊腺癌少见, 既往对本病及其并发症腹膜假黏液瘤认识较少, 目前已证实阑尾黏液性肿瘤是引起腹膜假黏液瘤的主要原因.

■相关报道

阑尾黏液性囊腺癌多为个案报道, 大宗报道较少。

镜无特征性表现, 主要作用是排除结肠肿瘤、肠结核等病变, 同时有助于判断肿瘤有无肠腔内浸润。肿瘤标志物CEA、CA19-9等对阑尾黏液腺癌有辅助诊断价值。本组术前诊断阑尾黏液性肿瘤者4例(40%), 原因(1)对本病缺乏认识; (2)无特异性检查; (3)临床满足于阑尾黏液囊肿的诊断。

本病需提高认识才能提高对其诊断率。当中老年人患者有以下情况需警惕本病: (1)慢性或反复急性阑尾炎病史; (2)腹腔穿刺抽出粘稠胶冻样腹水; (3)B超和CT发现盆腹腔囊性肿块, 腹水密度较高, 有分隔; (4)结肠镜发现阑尾开口隆起、质硬、溃疡。如仍未能明确同时考虑恶性肿瘤者应及时剖腹探查。而当术中发现: (1)腹腔内有胶冻样黏液腹水; (2)阑尾增粗, 管壁增厚, 管腔内有胶冻样黏液, 应取样送快速冰冻病理检查以明确诊断。但由于肿瘤黏液分泌旺盛, 瘤细胞成分相对较少, 病理学在此时也很难判断出其良恶性, 部分患者的确诊还要依靠术后石蜡切片病理。因此, 是否腹水穿刺尚存在争议。

在术中获得病理学依据后, 首选术式是右半结肠切除术。当一期以“阑尾炎”行阑尾切除术, 而病理回报为黏液腺癌时, 二期右半结肠切除是必要的。因为单纯阑尾切除和姑息性手术易导致肿瘤复发和转移。直接浸润、播散种植是阑尾黏液腺癌主要的转移途径, 并且主要局限在腹腔内。González-Moreno等^[11]报道阑尾黏液性肿瘤淋巴途径转移仅约2%。国外文献荟萃分析^[12]统计2101例阑尾黏液腺癌患者在右半结肠切除后的5年生存率为70%, 10年生存率为65%; 即使有腹膜假黏液瘤的患者5年生存率亦可达50%。而另有文献报道^[13]姑息切除术后患者5年生存率为32%, 有显著差异。而此外女性患者术中还应探查子宫、附件是否受累, 必要时需行联合脏器切除。而术中临床高度怀疑, 但术中病理又无法确诊的情况下, 应选用何种术式则尚无文献可供参考, 我们采取的是局部扩大切除, 行回盲部切除术或盲肠部分切除术, 并达到安全缘阴性。由于黏液腺癌极易发生腔内种植, 术中应注意保护术野及切口。对于已经并发PMP的患者, 目前的术式仍存在争议。最常采用的是减瘤手术, 尽可能完整切除肿瘤, 消除腹腔内肉眼可见转移灶。此手术难度较大, 病变广泛时需要切除小肠、结肠或脾、子宫等, 且术后复发率高。但对于复发病例仍应积极手术治疗, 可延长生存时间及改善生存质量。本组病例中一期

右半结肠切除者6例, 补充右半结肠切除者1例, 减瘤术者1例, 扩大局部切除者1例, 剖腹探查者1例, 其中右半结肠切除及扩大局部切除者均获得良好生存。

有学者^[14]建议在高级别的阑尾黏液性肿瘤, 同时有腹膜转移的病例中, 推荐静脉全身化疗, 但目前尚无公认的化疗方案。而对于并发腹腔假黏液瘤的患者, 术中用0.5% 5-FU溶液反复冲洗术野, 术后早期行腹腔灌注化疗及热疗, 能提高药物对肿瘤的作用, 对肿瘤细胞更具有细胞毒性, 使肿瘤局限、包裹, 尤其适于PMP这种肿瘤细胞较浅浸润的病变, 已得到多数国内外学者的认可^[15,16]。Deraco等^[17]报道在治疗35例腹膜假黏液瘤的减瘤术期间加用丝裂霉素、顺铂(加热至42.5℃)进行热化疗, 1例在术后21 d死亡, 其余患者5年生存率达97%。本组患者采用的是folfox方案或xelox方案, 但仅1例患者完成规律序贯化疗, 但生存期无明显差异。

多次手术及广泛的腹腔病变引起不同程度肠梗阻、肠功能紊乱、感染及肿瘤穿过隔肌导致胸膜假黏液瘤等并发症是常见的致死原因。辅助化疗能否改善患者生存尚存争议, 需有待进一步研究。阑尾黏液腺癌患者的预后较结肠型阑尾腺癌患者要好。决定预后的因素主要有原发肿瘤的部位和病理组织学分级。手术治疗是阑尾黏液腺癌的首选方法, 即便对复发病例, 如果能做到姑息切除或行减瘤手术, 也将有益于患者生存。

4 参考文献

- 1 Murphy EM, Farquharson SM, Moran BJ. Management of an unexpected appendiceal neoplasm. *Br J Surg* 2006; 93: 783-792 [PMID: 16775823 DOI: 10.1002/bjs.5385]
- 2 McCusker ME, Coté TR, Clegg LX, Sobin LH. Primary malignant neoplasms of the appendix: a population-based study from the surveillance, epidemiology and end-results program, 1973-1998. *Cancer* 2002; 94: 3307-3312 [PMID: 12115365 DOI: 10.1002/cncr.10589]
- 3 Benedix F, Reimer A, Gastinger I, Mroczkowski P, Lippert H, Kube R. Primary appendiceal carcinoma--epidemiology, surgery and survival: results of a German multi-center study. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 763-771 [PMID: 20561765 DOI: 10.1016/j.ejso.2010.05.025]
- 4 魏振军, 梁浩. 阑尾黏液腺癌临床资料回顾性调查分析. *人民军医杂志* 2007; 50: 604-605
- 5 Bradley RF, Stewart JH, Russell GB, Levine EA, Geisinger KR. Pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin: a clinicopathologic analysis of 101 patients uniformly treated at a single institution, with literature review. *Am J Surg Pathol* 2006;

- 30: 551-559 [PMID: 16699309 DOI: 10.1097/01.pas.0000202039.74837.7d]
- 6 张韵华, 刘利民, 袁海霞, 李超伦, 张晖. 阑尾黏液性囊性病变的超声表现. 上海医学影像 2011; 20: 17-19
- 7 董发进, 接连利, 刘清华. 阑尾原发性黏液性囊腺癌超声表现一例. 中华医学超声杂志(电子版) 2008; 5: 1010-1011
- 8 张丽敏, 滕陈迪, 黄崇权, 洪瑞镇. 阑尾黏液性肿瘤的CT诊断及鉴别诊断. 放射学实践 2011; 26: 205-208
- 9 Coulier B, Pestieau S, Hamels J, Lefebvre Y. US and CT diagnosis of complete cecocolic intussusception caused by an appendiceal mucocoele. *Eur Radiol* 2002; 12: 324-328 [PMID: 11870429 DOI: 10.1007/s003300101020]
- 10 Lam CW, Kuo SJ, Chang HC, Chen ST, Chen YL, Yang LH, Hsieh CS. Pseudomyxoma peritonei, origin from appendix: report of cases with images. *Int Surg* 2003; 88: 133-136 [PMID: 14584767]
- 11 González-Moreno S, Sugarbaker PH. Right hemicolectomy does not confer a survival advantage in patients with mucinous carcinoma of the appendix and peritoneal seeding. *Br J Surg* 2004; 91: 304-311 [PMID: 14991630 DOI: 10.1002/bjs.4393]
- 12 Turaga KK, Pappas SG, Gamblin T. Importance of histologic subtype in the staging of appendiceal tumors. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1379-1385 [PMID: 22302267 DOI: 10.1245/s10434-012-2238-1]
- 13 Ito H, Osteen RT, Bleday R, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Appendiceal adenocarcinoma: long-term outcomes after surgical therapy. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 474-480 [PMID: 14978617]
- 14 Sugarbaker PH. New standard of care for appendiceal epithelial neoplasms and pseudomyxoma peritonei syndrome? *Lancet Oncol* 2006; 7: 69-76 [PMID: 16389186]
- 15 Sugarbaker PH. Are there curative options to peritoneal carcinomatosis? *Ann Surg* 2005; 242: 748-50; author reply 750-1 [PMID: 16244553 DOI: 10.1016/S1470-2045]
- 16 Butterworth SA, Panton ON, Klaassen DJ, Shah AM, McGregor GI. Morbidity and mortality associated with intraperitoneal chemotherapy for Pseudomyxoma peritonei. *Am J Surg* 2002; 183: 529-532 [PMID: 12034386]
- 17 Deraco M, Baratti D, Inglese MG, Allaria B, Andreola S, Gavazzi C, Kusamura S. Peritonectomy and intraperitoneal hyperthermic perfusion (IPHP): a strategy that has confirmed its efficacy in patients with pseudomyxoma peritonei. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 393-398 [PMID: 15070599]

■同行评价

该文章总结和分
析10例阑尾黏液
腺瘤具有很好的
临床意义. 病例选
择恰当可靠, 分析
清晰, 提高了临床
工作对阑尾恶性
肿瘤的认识.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性

龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种多基因复杂疾病, 自2001年由Hugot等报道了人类的第一个CD易感基因NOD2/CARD15之后, 人们通过全基因组关联性研究已证实99个IBD易感性基因位点, 其中10q21基因rs10761659多态性已被国外多项研究证实与CD的易感性相关, 但在我国汉族人群中未被证实, 尚未见报道其与广西壮族IBD的相关性。

龙伟艳, 陈兰, 吕小平, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

詹灵凌, 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部 广西壮族自治区南宁市 530021

龙伟艳, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科回0832009

广西研究生教育创新基金资助项目, No. YCSZ2012035

广西教育厅基金资助项目, No. 201203YB036

作者贡献分布: 龙伟艳与吕小平对此文所作贡献均等。此课题由龙伟艳与吕小平设计; 研究过程由龙伟艳与陈兰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由詹灵凌提供; 数据分析由龙伟艳完成; 本论文写作由龙伟艳与吕小平完成。

通讯作者: 吕小平, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科。

lxyp58@hotmail.com

电话: 0771-3277211

收稿日期: 2013-05-18 修回日期: 2013-09-12

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-18

Association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease in a Guangxi Zhuang population

Wei-Yan Long, Ling-Ling Zhan, Lan Chen, Xiao-Ping Lv

Wei-Yan Long, Lan Chen, Xiao-Ping Lv, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ling-Ling Zhan, Department of Clinical Experimental Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0832009; the Graduate Education Innovation Foundation of Guangxi, No. YCSZ2012035; the Foundation of Department of Education of Guangxi, No. 201203YB036

Correspondence to: Xiao-Ping Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lxyp58@hotmail.com

Received: 2013-05-18 Revised: 2013-09-12

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To analyze the association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease (IBD) in a Zhuang population from Guangxi, China.

METHODS: A case-control study was conducted from August 2009 to October 2012, which included intestinal tissue samples of 73 Zhuang and 67 Han unrelated IBD patients and 70 Zhuang and 78 Han unrelated healthy volunteers in Guangxi. Genomic DNA was extracted from intestinal tissue using the phenol-chloroform method. The rs10761659 locus of the 10q21 gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR), genotyped by restriction fragment length polymorphism (RFLP) and verified by gene sequencing.

RESULTS: The homozygous mutant, heterozygous mutant and wild-type genotypes of the rs10761659 locus were found in both IBD patients and healthy controls, but the distribution of genotypes and allele frequencies was not significantly different among Crohn's disease, ulcerative colitis and control groups ($P > 0.05$). No significant difference was detected in the 10q21 gene rs10761659 polymorphism between Zhuang and Han patients with Crohn's disease or ulcerative colitis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The rs10761659 polymorphism of the 10q21 gene is not associated with susceptibility to IBD in the Zhuang population in Guangxi.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; 10q21 gene; Single nucleotide polymorphisms

Long WY, Zhan LL, Chen L, Lv XP. Association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease in a Guangxi Zhuang population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3146-3152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3146>

摘要

目的: 研究10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性的相关性。

■同行评议者
万军, 教授, 中国人民解放军总医院
南楼老年消化科。

方法: 采用病例对照研究, 分别收集2009-08/2012-10广西区域无血缘关系的壮族73例和汉族67例IBD患者及广西区域无血缘关系的壮族70例和汉族78例健康对照者的肠黏膜组织. 使用酚-氯仿法提取基因组DNA, PCR扩增目的片段, RFLP筛查rs10761659突变点, 基因测序法再进一步证实突变位点, 最后统计该多态性位点的基因型频率及等位基因频率, 分析其分布与广西壮族人群IBD的相关性.

结果: 广西壮族及汉族IBD患者与正常对照者均发现了10q21基因rs10761659突变型纯合子、突变型杂合子及野生型纯合子, 但其基因型频率及等位基因频率分布在克罗恩病(Chron's disease)患者、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)患者及正常对照者中差异均无统计学意义($P>0.05$); 壮族与汉族病例组比较, 其基因型频率分布也无统计学差异($P>0.05$).

结论: 10q21基因rs10761659多态性与中国广西壮族人群炎症性肠病无明显相关性.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 炎症性肠病; 10q21基因; 单核苷酸多态性

核心提示: 本研究通过PCR-RFLP法及基因测序法发现与西方国家炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性相关的10q21基因rs10761659多态性与广西壮族IBD患者无显著相关性.

龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平. 10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3146-3152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3146>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种胃肠道的慢性反复发作性炎性疾病, 包括克罗恩病(Chron's disease, CD)及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种临床病理类型. 到目前为止, IBD的发病机制仍未明确, 普遍认为是一种由遗传、环境、感染及免疫共同作用的多因素疾病^[1,2]. 大量研究证实遗传易感性在IBD的发病及发展过程起重要作用^[3-5]. 自2001年由Hugot、Ogura及Hampe等^[6-8]报道了人类的第一个CD易感基因之后, 人们通过全基因组关联性研究及其Meta分析, 已证实了99个IBD易感性基因位点, 其中UC及CD共享的有28个^[9], 而与

CD相关的可达71个^[10], 近年来许多研究发现了一些新的IBD易感基因位点, 关注较多的如IL-23R-rs11805303, ATG16L1-rs10210302, NOD2-P268S, PTPN2-rs2542151, 10q21-rs10761659等^[11-15], 但多数位于基因编码区上, 而rs10761659是位于10q21基因非编码基因间区(和内含子一起统称基因沙漠区)上的IBD多态性位点, 目前越来越多的研究开始关注基因沙漠区的疾病易感基因. 国外已有多项研究证实10q21基因的rs10761659改变可以增加CD的易感性^[11,12,16,17], 而对意大利人群的研究显示rs10761659与UC及CD均相关, 并证实其与成人CD的回肠发病相关^[18]. 但在我国广东地区却报道了该位点与我国汉族人群UC、CD的发病无显著相关^[9], 提示在不同的种族遗传背景中, rs10761659对IBD发病机制的作用存在显著的差异性. 广西是我国壮族人口最大的聚居地, 他的疾病遗传性和易感基因都非常独特. 在广西壮族人群中, 10q21基因变异与IBD的相关性如何目前尚未见报道. 因此, 本研究的目的是探索10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群中IBD的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-08/2012-10在广西医科大学第一附属医院消化内科就诊的广西区域无血缘关系的IBD患者140例, 其中UC 98例, CD 42例, 壮族73例, 汉族67例, 男75例, 女65例, 平均年龄40.79岁±13.56岁, IBD的诊断依据2012年中华医学会消化病学分会制定的标准^[20], 并排除患有其他自身免疫性疾病者. 并收集广西区域无血缘关系的健康对照者148例, 其中壮族70例, 汉族78例, 男75例, 女73例, 平均年龄41.52岁±14.15岁. IBD组和正常对照组年龄及性别比较差异无统计学意义($P>0.05$), 标本采集经医院伦理委员会批准和患者本人或家属知情同意.

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取: 内镜下钳取25-50 mg的新鲜肠黏膜组织, 立即转移至-80 °C冰箱. 用生理盐水将解冻的肠黏膜组织洗净, 置EP管中尽量剪碎, 加入50 μL的SDS(10%)、450 μL TES及5 μL蛋白酶K(20 g/L), 轻柔混匀后放置56 °C水浴箱中充分消化(7-8 h), 加入等体积的Tris饱和酚, 混匀后在4 °C、12000 r/min离心机中离心10 min, 提取上清液至另一EP管; 加入等体积的Tris饱和酚、氯仿、异戊醇混合液(25:24:1), 轻柔混匀分层后4 °C、12000 r/min离心10 min

■ 研发前沿

多数IBD易感基因位点是位于基因的编码区, 而rs10761659位于10q21基因非编码基因间区(和内含子合称沙漠区), 目前对基因沙漠区的疾病易感基因的致病机制及其功能的研究已成为一热点.

■ 相关报道

*rs10761659*与CD的相关性已在英国、德国、荷兰、比利时、意大利等西方国家中反复证实,意大利还发现*rs10761659*与UC相关.日本的研究提示*rs10761659*与日本CD患者弱相关或者无关,而我国广东未能证实该多态性位点与我国汉族人IBD的易感性相关.

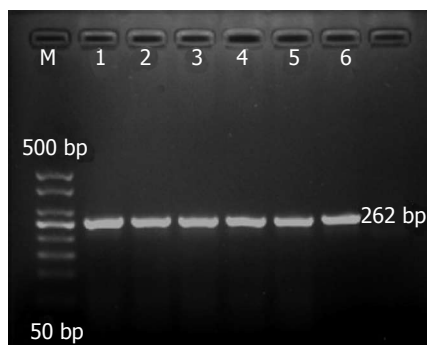


图1 PCR产物电泳图. M: Marker (50 ladder); 1, 2: 壮族UC、CD; 3, 4: 汉族UC、CD; 5, 6: 健康对照者. UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病.

并提取上清液至另一EP管;再加入等体积的氯仿、异戊醇混合液(24:1),混匀后同样条件离心10 min,提取上清液于另一EP管;然后加入约2.5倍体积的无水乙醇,用枪头轻轻吹吸至白色絮状物完全析出,再次离心10 min后弃去上清液,在白色沉淀中加入适量750 mL/L的乙醇洗涤2次,相同条件离心5 min后弃去上清液,放置通风橱自然挥干,最后加入50-120 μ L TE溶解,置-20 $^{\circ}$ C保存备用,用分光光度仪检测DNA的纯度及浓度.

1.2.2 PCR扩增DNA目的片段:引物序列设计参考文献[19],上游:5'-GCTTAGGAAA-CAAAGGAATCAC-3';下游:5'-AGTCAAAGAG-GAGGGCGTT-3',由生工生物技术(上海)有限公司合成引物. PCR反应体系包括DNA模板2 μ L、引物(10 μ mol/L)上下游各1 μ L、2 \times pfuPCR Master Mix(北京天根)10 μ L,最后加ddH₂O至20 μ L. 反应条件:预变性94 $^{\circ}$ C, 5 min;变性94 $^{\circ}$ C、45 s,退火60 $^{\circ}$ C、45 s,延伸72 $^{\circ}$ C、45 s,总共35个循环;72 $^{\circ}$ C继续延伸10 min. PCR产物置4 $^{\circ}$ C冰箱保存,取5 μ L在含核酸染料的2%琼脂糖凝胶上电泳,凝胶成像仪上鉴定目的片段.

1.2.3 RFLP筛查突变位点:根据突变位点(G \rightarrow A)选择相应限制性内切酶*Taa* I (*Hpy*CH4III)(美国Fermentas公司). 酶切反应体系包括PCR产物5 μ L, 10 \times Buffer Tango缓冲液1 μ L, 限制性内切酶0.5 μ L,再加ddH₂O至17 μ L. 将混匀后的反应体系置于37 $^{\circ}$ C水浴15 h,取10 μ L酶切产物加于含核酸染料的3%琼脂糖凝胶上,在90 V电压下电泳约60 min,凝胶成像仪上判断酶切产物片段大小.

1.2.4 基因测序进一步确定突变位点:对RFLP中发现突变者重新用PCR扩增目的片段,切胶纯化后送往北京三博远志测序部进行基因测序,测序

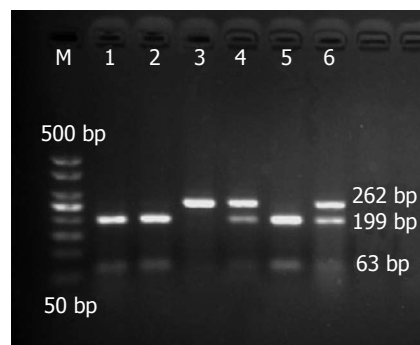


图2 酶切产物电泳图. M: Marker (50 ladder); 1, 2, 5: 野生型纯合子; 3: 突变型纯合子; 4, 6: 突变型杂合子.

仪为美国ABI 3730XL, 测序结果在PubMed中的BLAST里进行比对,用Chromas软件判读基因型.

统计学处理 用SPSS16.0软件包进行分析,统计*rs10761659*在壮族与汉族的CD组、UC组及健康对照组中的基因型频率及等位基因频率,用Hardy-Weinberg进行遗传平衡性检验,用 χ^2 检验比较各组间基因型及等位基因频率分布的差异, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 PCR产物电泳分析 PCR扩增后,形成了包含*rs10761659*位点的262 bp目的片段(图1).

2.2 酶切产物电泳分析 *Taa* I (*Hpy*CH4III)内切酶可识别碱基序列ACNGT,*rs10761659*的PCR目的片段被其消化后形成了3种基因型的条带,野生型被切开形成两条条带(199、63 bp),突变型杂合子被切开形成3条条带(262、199、63 bp),而突变型纯合子不能被切开,仍保留262 bp一条条带(图2).

2.3 基因测序分析 将*rs10761659*的PCR产物进行测序后,结果和RFLP的一致,出现了3种基因型:野生型(G/G)、突变型杂合子(G/A)、突变型纯合子(A/A)(图3).

2.4 基因型与等位基因频率分布 汉族和壮族的病例组及正常对照组的*rs10761659*基因型及等位基因频率分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$),提示所选样本具有群体代表性. 广西壮族及汉族的CD组、UC组与正常对照组均发现有*rs10761659*突变型纯合子、突变型杂合子及野生型纯合子,但其基因型及等位基因频率在CD组、UC组和正常对照组中的分布均无统计学差异($P>0.05$);壮族CD组与汉族CD组比较、壮族UC组与汉族UC组比较,*rs10761659*基因型频率分布差异也无统计学意

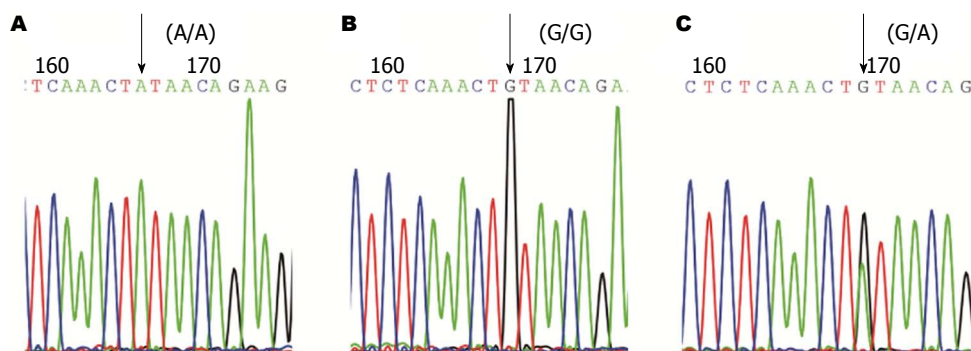


图3 基因测序图. A: 突变型纯合子; B: 野生型纯合子; C: 突变型杂合子.

■ 创新盘点

广西是我国壮族人口最大的聚居地, 他的疾病遗传性和易感基因都非常独特. 本研究发现广西壮族IBD患者存在rs10761659突变体, 但未达统计学相关性, 这和西方国家的研究结果相反, 提示IBD的基因易感性存在显著的种族、区域差异性.

表1 10q21基因rs10761659多态性的基因型与等位基因频率分布n(%)

民族	基因型	正常对照组	CD组	UC组
壮族	GG	40(57.1)	9(47.4)	30(55.6)
	GA	26(37.1)	8(42.1)	21(38.9)
	AA	4(5.7)	2(10.5)	3(5.6)
	等位基因A的频率(%)	24.2	31.5	25.0
汉族	GG	50(64.1)	12(52.2)	23(52.3)
	GA	24(30.8)	8(34.8)	18(40.9)
	AA	4(5.1)	3(13.0)	3(6.8)
	等位基因A的频率(%)	20.5	30.4	27.2

CD: 克罗恩病; UC: 溃疡性结肠炎.

义($P>0.05$)(表1).

3 讨论

IBD是一种多基因疾病, 近年来, 全基因组关联性研究已成为一种发现复杂疾病(包括IBD)易感基因或位点的有效途径, 使人类对IBD的遗传易感性有了更深的了解. 2008年Barrett等^[21]对3个关于欧洲人群CD大样本(包含3230个患者及4829个正常者)的全基因组关联性研究进行了meta分析及重复研究, 一共定义了30余种CD易感基因, 包括10q21等11个之前所报道的突变体及21个新的CD高危基因如STAT3、JAK2、ICOSLG、CDKAL1、ITLN1等. 随后, 另一个更大规模(包含了6333例患者及15056例正常对照者)的meta分析结果显示在全基因组关联性研究中得到证实的欧洲人CD易感基因已达71个, 包括10q21-rs10761659^[10]. 这些研究结果强烈支持了CD是一种多基因相关性疾病, 为将来这些易感基因的致病机制及功能的研究提供了重要线索.

2007年由Rioux等^[11]首次报道了10q21-rs10761659与CD的易感性相关, 同年, 由英国病例控制协会(WTCCC)进行的全基因组关联性

研究再次证实了10q21-rs10761659与CD显著相关($P = 2.7 \times 10^{-7}$)^[12]. rs10761659是一个位于染色体10q21上非编码基因间区的SNP位点, 和锌指蛋白基因ZNF365末端的着丝点相距14 kb, 和4型遗传蛋白假基因的着丝点相距55 kb^[11]. 锌指蛋白基因及假基因的致病机制目前尚未明确, ZNF365基因编码的蛋白又称锌指蛋白, 他作为一种对真核生物基因转录过程起调控作用的重要转录因子^[22], 而假基因可以调节信使RNA的稳定性^[23], 当rs10761659发生改变(G突变成A)时, 可能会影响与其相邻的这两个基因的功能, 最终引起IBD的发病.

rs10761659是近几年发现的一个CD易感基因, 但在不同种族及人群中存在着显著差异, 自2007年的一项全基因组关联性研究报道rs10761659与CD的易感性相关之后^[11], 在英国^[12]、德国^[16]、荷兰、比利时^[17]及德系犹太人群^[24]中反复得到了证实. 此外, rs10761659除了与意大利人群CD相关外, 还被发现与意大利人群UC相关, 其中与成人CD及UC的易感性均相关, 但仅与儿童UC相关^[18]. 一项最近的Meta分析也提示了rs10761659是CD和UC的共享易感

■应用要点

10q21基因
rs10761659多态性可能不是中国
广西壮族群炎症
性肠病的易感
基因位点。

位点^[9]。然而对日本人群前期的研究表明位于NKX2-3基因上游区域的rs10761659与日本CD患者弱相关^[25],但之后的另一个研究却报道其与日本人群IBD无关^[26],而我国广东地区也报道了该多态性位点与我国汉族人IBD无关^[19],提示可能是因为研究样本量偏小引起的误差,或者是该基因多态性不是亚洲人IBD的易感基因位点。我们此次的研究结果和我国广东汉族人的研究结果一致,虽然我们发现了10q21-rs10761659在壮族或汉族UC、CD中的突变率均比正常对照者高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。这和我国对其他一些IBD易感基因的研究不同的是,该基因位点在CD患者、UC患者和正常人中的突变率均高,各组间比较未达统计学差异,而之前对我国人群的研究显示,NOD2-R702W, G908R, L1007fs^[27,28], TLR4-Asp299Gly, Thr399Ile, TLR2-Arg753Gln, Arg677Trp^[29]和OCTN1-C1672T, OCTN2-G-207C^[30]等基因位点在IBD患者及正常人中均缺如,NOD2-P268S尽管在我国CD患者中的突变率不高,但和正常人对比较仍然有统计学差异。综合各项研究数据表明rs10761659对IBD的作用存在明显的种族、地理及人群差异性,且对IBD的不同病理类型的作用也不同。

很多研究都证明了CD的基因易感性和他的临床特征存在关联性^[31,32],我国广东地区的研究也发现了NOD2/CARD15基因上的P268S多态性改变可能与我国汉族人群CD的发病年龄偏小、回肠病变及合并肠腔狭窄相关^[19]。对于10q21基因rs10761659多态性与CD临床特征的关系研究,意大利学者仅发现其与成人的回肠型CD相关,与儿童CD的临床特征并不相关^[18],而其他几个关于rs10761659的研究未见报道其与CD临床特征的相关性^[11,12,16,17,19,24],我们此次的研究并没有发现rs10761659与CD的发病机制相关,而且壮族与汉族人之间无差别,因此没有进一步研究他与CD临床特征的关系,未来对致病基因型及临床表型之间的关系还有待更多的研究去探索。

4 参考文献

- Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185]
- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-429 [PMID: 12167685]
- 于鹏丽, 张晓斐, 沈方, 张红杰. IL-17基因多态性与中国汉族人群炎症性肠病的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 875-882
- 沈秀云, 施瑞华. 炎症性肠病易感基因研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1591-1601

- Haritunians T, Jones MR, McGovern DP, Shih DQ, Barrett RJ, Derkowski C, Dubinsky MC, Dutridge D, Fleshner PR, Ippoliti A, King L, Leshinsky-Silver E, Levine A, Melmed GY, Mengesha E, Vasilauskas EA, Ziaee S, Rotter JI, Targan SR, Taylor KD. Variants in ZNF365 isoform D are associated with Crohn's disease. *Gut* 2011; 60: 1060-1067 [PMID: 21257989 DOI: 10.1136/gut.2010.227256]
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576]
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606 [PMID: 11385577]
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeier A, MacPherson AJ, Bridger S, van Deventer S, Forbes A, Nikolaus S, Lennard-Jones JE, Foelsch UR, Krawczak M, Lewis C, Schreiber S, Mathew CG. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001; 357: 1925-1928 [PMID: 11425413]
- Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, Lee JC, Goyette P, Imielinski M, Latiano A, Lagacé C, Scott R, Amininejad L, Bumpstead S, Baidoo L, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Colombel JF, Denson LA, De Vos M, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Fehrmann RS, Floyd JA, Florin T, Franchimont D, Franke L, Georges M, Glas J, Glazer NL, Guthery SL, Haritunians T, Hayward NK, Hugot JP, Jobin G, Laukens D, Lawrance I, Lémann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, McGovern DP, Milla M, Montgomery GW, Morley KI, Mowat C, Ng A, Newman W, Ophoff RA, Papi L, Palmieri O, Peyrin-Biroulet L, Panés J, Phillips A, Prescott NJ, Proctor DD, Roberts R, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Schumm P, Seibold F, Sharma Y, Simms LA, Seielstad M, Steinhart AH, Targan SR, van den Berg LH, Vatn M, Verspaget H, Walters T, Wijmenga C, Wilson DC, Westra HJ, Xavier RJ, Zhao ZZ, Ponsioen CY, Andersen V, Torkvist L, Gazouli M, Anagnou NP, Karlsen TH, Kupcuskas L, Sventoraityte J, Mansfield JC, Kugathasan S, Silverberg MS, Halfvarson J, Rotter JI, Mathew CG, Griffiths AM, Gearry R, Ahmad T, Brant SR, Chamaillard M, Satsangi J, Cho JH, Schreiber S, Daly MJ, Barrett JC, Parkes M, Annesse V, Hakonarson H, Radford-Smith G, Duerr RH, Vermeire S, Weersma RK, Rioux JD. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43: 246-252 [PMID: 21297633 DOI: 10.1038/ng.764]
- Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, Lees CW, Balschun T, Lee J, Roberts R, Anderson CA, Bis JC, Bumpstead S, Ellinghaus D, Festen EM, Georges M, Green T,

- Haritunians T, Jostins L, Latiano A, Mathew CG, Montgomery GW, Prescott NJ, Raychaudhuri S, Rotter JI, Schumm P, Sharma Y, Simms LA, Taylor KD, Whiteman D, Wijmenga C, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Cohen A, Colombel JF, Cottone M, Stronati L, Denson T, De Vos M, D'Inca R, Dubinsky M, Edwards C, Florin T, Franchimont D, Gearry R, Glas J, Van Gossum A, Guthery SL, Halfvarson J, Verspaget HW, Hugot JP, Karban A, Laukens D, Lawrance I, Lemann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, Mowat C, Newman W, Panés J, Phillips A, Proctor DD, Regueiro M, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Seibold F, Steinhardt AH, Stokkers PC, Torkvist L, Kullak-Ublick G, Wilson D, Walters T, Targan SR, Brant SR, Rioux JD, D'Amato M, Weersma RK, Kugathasan S, Griffiths AM, Mansfield JC, Vermeire S, Duerr RH, Silverberg MS, Satsangi J, Schreiber S, Cho JH, Annesse V, Hakonarson H, Daly MJ, Parkes M. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42: 1118-1125 [PMID: 21102463 DOI: 10.1038/ng.717]
- 11 Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, Silverberg MS, Goyette P, Huett A, Green T, Kuballa P, Barnada MM, Datta LW, Shugart YY, Griffiths AM, Targan SR, Ippoliti AF, Bernard EJ, Mei L, Nicolae DL, Regueiro M, Schumm LP, Steinhardt AH, Rotter JI, Duerr RH, Cho JH, Daly MJ, Brant SR. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet* 2007; 39: 596-604 [PMID: 17435756]
- 12 Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678 [PMID: 17554300]
- 13 Chua KH, Hilmi I, Ng CC, Eng TL, Palaniappan S, Lee WS, Goh KL. Identification of NOD2/CARD15 mutations in Malaysian patients with Crohn's disease. *J Dig Dis* 2009; 10: 124-130 [PMID: 19426395 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00374.x]
- 14 Gasche C, Nemeth M, Grundtner P, Willheim-Polli C, Ferenci P, Schwarzenbacher R. Evolution of Crohn's disease-associated Nod2 mutations. *Immunogenetics* 2008; 60: 115-120 [PMID: 18253730 DOI: 10.1007/s00251-008-0274-6]
- 15 Zhao XD, Shen FC, Zhang HJ, Shen XY, Wang YM, Yang XZ, Tu HM, Tai YH, Shi RH. Association of interleukin-23 receptor gene polymorphisms with susceptibility and phenotypes of inflammatory bowel diseases in Jiangsu Han population. *Zhonghua Neike Zazhi* 2011; 50: 935-41 [PubMed: 22333126]
- 16 Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Hedderich J, May S, Lu T, Schuldt D, Nikolaus S, Rosenstiel P, Krawczak M, Schreiber S. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. *Nat Genet* 2008; 40: 713-715 [PMID: 18438405 DOI: 10.1038/ng.148]
- 17 Weersma RK, Stokkers PC, Cleynen I, Wolfkamp SC, Henckaerts L, Schreiber S, Dijkstra G, Franke A, Nolte IM, Rutgeerts P, Wijmenga C, Vermeire S. Confirmation of multiple Crohn's disease susceptibility loci in a large Dutch-Belgian cohort. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 630-638 [PMID: 19174780 DOI: 10.1038/ajg.2008.112]
- 18 Latiano A, Palmieri O, Latiano T, Corritore G, Bossa F, Martino G, Biscaglia G, Scimeca D, Valvano MR, Pastore M, Marseglia A, D'Inca R, Andriulli A, Annesse V. Investigation of multiple susceptibility loci for inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *PLoS One* 2011; 6: e22688 [PMID: 21818367 DOI: 10.1371/journal.pone.0022688]
- 19 Lv C, Yang X, Zhang Y, Zhao X, Chen Z, Long J, Zhang Y, Zhong C, Zhi J, Yao G, Jiang B, Zhi F. Confirmation of three inflammatory bowel disease susceptibility loci in a Chinese cohort. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1465-1472 [PMID: 22426692 DOI: 10.1007/s00384-012-1450-6]
- 20 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年. 广州). *胃肠病学* 2012; 17: 763-780
- 21 Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, Brant SR, Silverberg MS, Taylor KD, Barnada MM, Bitton A, Dassopoulos T, Datta LW, Green T, Griffiths AM, Kistner EO, Murtha MT, Regueiro MD, Rotter JI, Schumm LP, Steinhardt AH, Targan SR, Xavier RJ, Libioulle C, Sandor C, Lathrop M, Belaiche J, Dewit O, Gut I, Heath S, Laukens D, Mni M, Rutgeerts P, Van Gossum A, Zelenika D, Franchimont D, Hugot JP, de Vos M, Vermeire S, Louis E, Cardon LR, Anderson CA, Drummond H, Nimmo E, Ahmad T, Prescott NJ, Onnie CM, Fisher SA, Marchini J, Ghori J, Bumpstead S, Gwilliam R, Tremelling M, Deloukas P, Mansfield J, Jewell D, Satsangi J, Mathew CG, Parkes M, Georges M, Daly MJ. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008; 40: 955-962 [PMID: 18587394 DOI: 10.1038/ng.175]
- 22 Wolfe SA, Nekludova L, Pabo CO. DNA recognition by Cys2His2 zinc finger proteins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2000; 29: 183-212 [PMID: 10940247]
- 23 Hirotsune S, Yoshida N, Chen A, Garrett L, Sugiyama F, Takahashi S, Yagami K, Wynshaw-Boris A, Yoshiki A. An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene. *Nature* 2003; 423: 91-96 [PMID: 12721631]
- 24 Kenny EE, Pe'er I, Karban A, Ozelius L, Mitchell AA, Ng SM, Erazo M, Ostrer H, Abraham C, Abreu MT, Atzmon G, Barzilai N, Brant SR, Bressman S, Burns ER, Chowder Y, Clark LN, Darvasi A, Doherty D, Duerr RH, Eliakim R, Giladi N, Gregersen PK, Hakonarson H, Jones MR, Marder K, McGovern DP, Mulla J, Orr-Urtreger A, Proctor DD, Pulver A, Rotter JI, Silverberg MS, Ullman T, Warren ST, Waterman M, Zhang W, Bergman A, Mayer L, Katz S, Desnick RJ, Cho JH, Peter I. A genome-wide scan of Ashkenazi Jewish Crohn's disease suggests novel susceptibility loci. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002559 [PMID: 22412388 DOI: 10.1371/journal.pgen.1002559]
- 25 Yamazaki K, Takahashi A, Takazoe M, Kubo M, Onouchi Y, Fujino A, Kamatani N, Nakamura Y, Hata A. Positive association of genetic variants in the upstream region of NKX2-3 with Crohn's disease in Japanese patients. *Gut* 2009; 58: 228-232 [PMID: 18936107 DOI: 10.1136/gut.2007.140764]
- 26 Nakagome S, Takeyama Y, Mano S, Sakisaka S, Matsui T, Kawamura S, Oota H. Population-specific susceptibility to Crohn's disease and ulcerative colitis; dominant and recessive relative risks in the Japanese population. *Ann Hum Genet*

同行评价

本文目的明确, 资料详实, 结果可靠, 有助于深入认识IBD发病机制所涉及的遗传因素中易感基因的种族差异问题。

- 2010; 74: 126-136 [PMID: 20367632 DOI: 10.1111/j.1469-1809.2010.00567.x]
- 27 林美娇, 吕小平, 陈兰, 詹灵凌. NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1210-1215
- 28 Gao M, Cao Q, Luo LH, Wu ML, Hu WL, Si JM. [NOD2/CARD15 gene polymorphisms and susceptibility to Crohn's disease in Chinese Han population]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2005; 44: 210-212 [PMID: 15840263]
- 29 Chen L, Lin MJ, Zhan LL, Lv XP. Analysis of TLR4 and TLR2 polymorphisms in inflammatory bowel disease in a Guangxi Zhuang population. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6856-6860 [PMID: 23239925 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6856]
- 30 林美娇, 吕小平, 詹灵凌, 唐星火. OCTN1、OCTN2基因多态性与广西壮族炎症性肠病患者的相关性研究. 广西医学 2011; 33: 1099-1102
- 31 Jung C, Colombel JF, Lemann M, Beaugerie L, Allez M, Cosnes J, Vernier-Massouille G, Gornet JM, Gendre JP, Cezard JP, Ruemmele FM, Turck D, Merlin F, Zouali H, Libersa C, Dieudé P, Soufir N, Thomas G, Hugot JP. Genotype/phenotype analyses for 53 Crohn's disease associated genetic polymorphisms. *PLoS One* 2012; 7: e52223 [PMID: 23300620 DOI: 10.1371/journal.pone.0052223]
- 32 Cleynen I, González JR, Figueroa C, Franke A, McGovern D, Bortlik M, Crusius BJ, Vecchi M, Artieda M, Szczypiorska M, Bethge J, Arteta D, Ayala E, Danese S, van Hogezaand RA, Panés J, Peña SA, Lukas M, Jewell DP, Schreiber S, Vermeire S, Sans M. Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: results from the IBDchip European Project. *Gut* 2012; 62: 1556-1565 [PMID: 23263249 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300777]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系

姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊

姚宏凤, 南京市中医院急诊科 江苏省南京市 210001
沈洪, 郑凯, 朱磊, 江苏省中医院脾胃病科 江苏省南京市 210029
姚宏凤, 住院医师, 主要从事溃疡性结肠炎的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 012071001137
作者贡献分布: 此课题由沈洪、郑凯及姚宏凤设计; 研究过程由姚宏凤完成; 数据分析由姚宏凤与朱磊完成; 文章由姚宏凤撰写; 沈洪提供实验材料, 并审阅论文、指导论文修改。
通讯作者: 沈洪, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 210029, 江苏省南京市汉中中路155号, 江苏省中医院脾胃病科。
shenhong999@163.com
电话: 13851872859
收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-08-28
接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-18

Plasma and colonic mucosal levels of IL-23 and IL-17 in patients with ulcerative colitis

Hong-Feng Yao, Hong Shen, Kai Zheng, Lei Zhu

Hong-Feng Yao, Department of Emergency, TCM Hospital of Nanjing City, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Hong Shen, Kai Zheng, Lei Zhu, Department of Spleen and Stomach Diseases, Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 012071001137
Correspondence to: Hong Shen, Professor, Chief Physician, Department of Spleen and Stomach Diseases, Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. shenhong999@163.com
Received: 2013-05-10 Revised: 2013-08-28
Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To determine the levels of interleukin 23 (IL-23) and interleukin 17 (IL-17) in the plasma and colonic mucosa in patients with ulcerative colitis (UC) and to analyze their correlations.

METHODS: ELISA and immunohistochemistry were used to determine the levels of IL-23 and IL-17 in the plasma and colonic mucosa in 40 UC patients and 12 healthy controls, respectively.

RESULTS: Both plasma and colonic mucosal levels of IL-23 and IL-17 were significantly in-

creased in UC patients compared to healthy controls (all $P < 0.05$). IL-23 and IL-17 immunoreactivity was significantly associated with pathologic grade of UC. The expression of IL-17 had a positive correlation with that of IL-23.

CONCLUSION: IL-23 and IL-17 may play an important role in the progression of UC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Interleukin-23; Interleukin-17

Yao HF, Shen H, Zheng K, Zhu L. Plasma and colonic mucosal levels of IL-23 and IL-17 in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3153-3157
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3153.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3153>

摘要

目的: 检测白介素-23(interleukin-23, IL-23)和IL-17在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者血浆及肠黏膜组织中的表达, 并探讨二者间关系。

方法: 留取40例UC患者血浆及肠黏膜组织标本, 进行组织学分级, 同时收集12例正常对照者血浆和肠黏膜组织标本。ELISA法检测血浆中IL-23、IL-17水平, 免疫组织化学SP法检测肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达, 并分析两者关系。

结果: 40例UC患者组织学分级1级7例, 2级21例, 3级12例。UC患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17表达均高于正常对照组(分别为: 0.17 ± 0.58 vs 4.38 ± 1.27 , $P < 0.05$; 0.42 ± 1.00 vs 4.88 ± 0.91 , $P < 0.05$), 且二者的表达随UC组织病理分级增加而增高(分别为: 3.00 ± 0.53 vs 4.12 ± 1.15 vs 5.58 ± 0.51 ; 3.71 ± 0.76 vs 4.81 ± 0.60 vs 5.67 ± 0.65), IL-23与IL-17呈显著正相关($P < 0.01$)。

■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病由肠黏膜天然免疫异常启动、肠壁黏膜免疫调节异常持续、肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与, 其中免疫反应异常是UC发生发展的核心环节。白细胞介素(interleukin)-23、IL-17作为IL-23/IL-17轴主要细胞因子已成为研究热点, 但两者表达水平变化与UC肠黏膜组织学分级是否相关以及两者内部关联性尚不明确。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理学; 卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

■研究前沿

本研究通过检测IL-23、IL-17在活动期UC患者血浆及肠黏膜组织中的表达,分析两种细胞因子的变化与UC肠黏膜组织学分级的关系,同时分析两者内部关联性。

结论: IL-23、IL-17在UC的病程中可能发挥重要作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 白介素17; 白介素23

核心提示: 本研究针对活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)血浆及肠黏膜组织中白细胞介素(interleukin, IL)-23、IL-17的表达、相关性进行研究,同时分析两者与组织学分级的相关性,意在说明IL-23、IL-17在一定程度上可以评估UC疾病活动情况及肠黏膜组织的损伤程度,临床上我们可以IL-23、IL-17为新的切入点,寻找更有效的治疗方法。

姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊. 溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3153-3157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3153>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)为直肠和结肠慢性非特异性炎症性疾病^[1], 病变主要局限于大肠黏膜及黏膜下层, 临床表现为腹泻、黏液脓血便、腹痛等, 病情轻重不等, 多反复发作。

UC发病机制涉及遗传、免疫等多方面。白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)与IL-17做为IL-23/IL-17轴最主要的炎症因子, 是近年来国内外学者研究的热点。IL-23由抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)分泌, 文献报道IL-23可能是引起肠道炎症的关键介质^[2], 他与辅助性T细胞17(T helper 17 cells, Th17)表面IL-23受体(IL-23R)结合, 促使Th17细胞稳定扩增, 从而表达大量效应致炎细胞因子IL-17, 破坏肠黏膜屏障、损伤肠上皮细胞, 导致肠道炎症^[3]。至今虽有多项研究表明IL-23、IL-17在UC肠黏膜组织及血浆中表达均升高^[4-6], 但IL-23、IL-17表达相关性及其与UC患者肠黏膜组织病理分级关系尚不明确。因此, 我们检测了IL-23、IL-17在UC血浆及肠黏膜中的表达, 探讨他们在UC发病机制中的作用和相互关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-04/2012-12江苏省中医院及南京市第一人民医院消化科住院及门诊符合条件的40例活动期UC患者, 所有UC患者临床表现、肠镜和病理检查均符合2007年中华医学会

消化病学会炎症性肠病协作组制定的UC诊断标准^[7]。其中男23例, 女17例, 年龄19-63岁(中位年龄42.8岁), 病程0.4-8.4年。对照组12例, 为性别、年龄与患者相匹配的健康体检者。组织学分级由2位病理科医生阅片, 按Riley-Manigoodman标准进行^[8]。所有患者及健康对照者标本留取前均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 分别在患者就诊时行电子结肠镜检查, 留取结肠黏膜活检标本, 10%甲醛固定, 脱水, 常规石蜡包埋待测; 另于肠镜次日取患者晨空腹肘静脉血2 mL, 离心后分离血浆, 置-80℃冰箱保存待测。

1.2.2 检测: (1)酶联免疫吸附(ELISA)法: 分别使用IL-23、IL-17 ELISA试剂盒检测血浆中IL-23、IL-17水平, 由CliniBio 128型酶标仪测定结果, 采用EXCEL软件绘制标准曲线, 试剂盒均由美国RB公司提供, 操作按说明书进行。所有标本均同批检测; (2)免疫组织化学染色: 石蜡切片脱蜡水化, H₂O₂灭活内源性酶, 高压锅高温高压修复抗原, 免疫组织化学染色方法参照SP试剂盒产品说明书操作流程依次进行, 用0.01 mol/L PBS替代一抗作阴性对照, 用已知阳性切片作阳性对照。DAB显色、苏木素复染, 脱水, 透明, 封片显微镜下观察。所用试剂: 纯化的鼠抗人IL-23(p19)多克隆抗体(稀释比例1:100), 购自Biolegend公司; 兔抗人IL-17多克隆抗体(稀释比例1:100), 购自Santa Cruz公司。结果判定: 将黏膜病理切片染色强度、染色面积均为阴性记0分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为淡黄色及<10%均记1分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为黄色及10%-25%均记2分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为棕黄色及26%-50%均记3分; 黏膜病理切片染色面积>50%记4分。计算病理切片染色强度及染色面积赋分。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件处理数据资料, 结果以mean±SD表示, 运用两独立样本均数t检验(Student's *t*-test)检验UC组和对对照组血浆及组肠黏膜组织IL-23、IL-17表达水平; 单因素方差分析(one way ANOVA)进行组织学分级间的比较; IL-23与IL-17相关性分析采用Pearson相关分析。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入的UC患者临床病理特点 临床类型为初

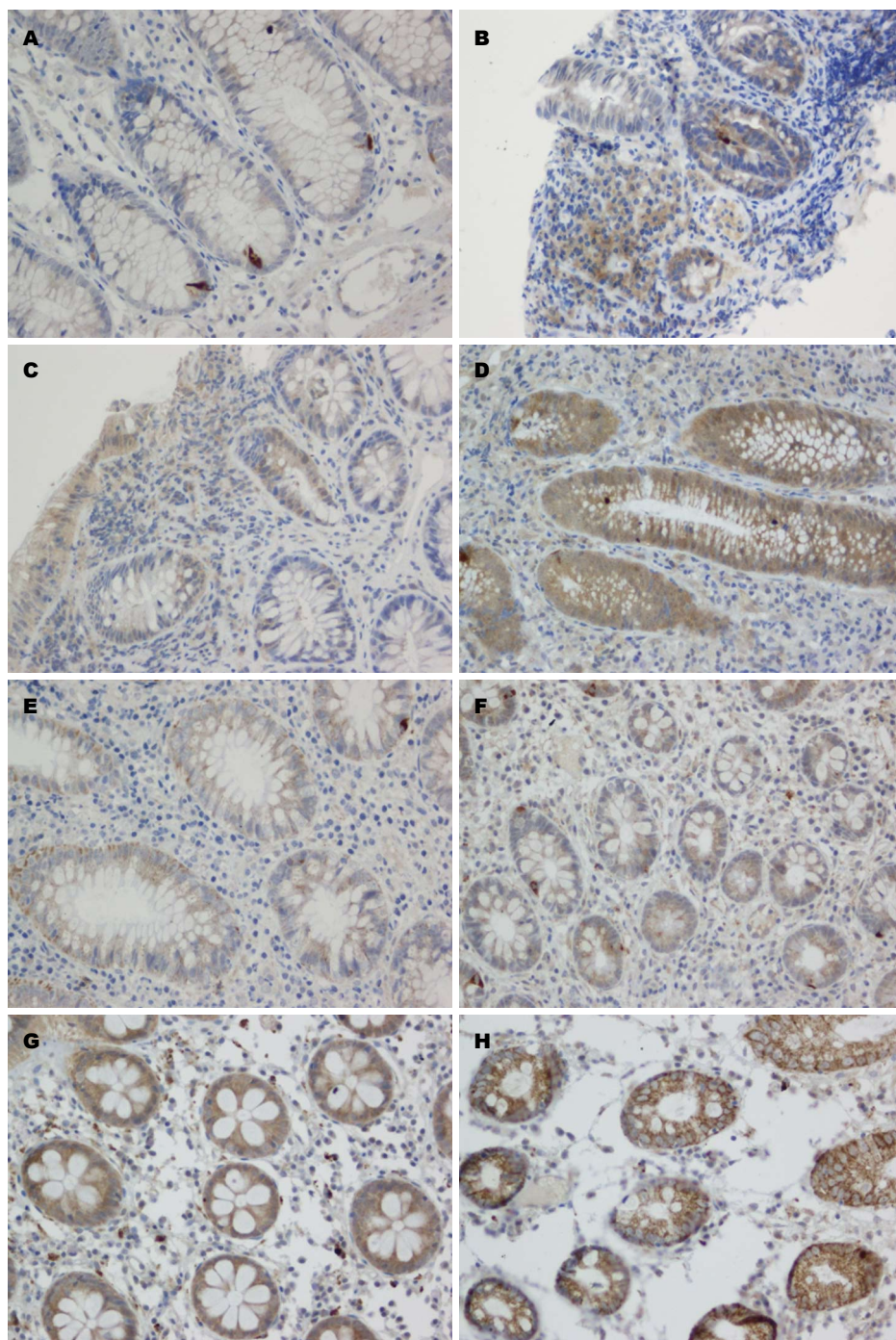


图1 免疫组织化学SP法检测IL-23、IL-17在结肠黏膜中的表达($\times 40$)。A, E:对照组; B, F: 病理组织学分级1级; C, G: 病理组织学分级2级; D, H: 病理组织学分级3级; A, B, C, D: IL-23在结肠黏膜中的表达; E, F, G, H: IL-17在结肠黏膜中的表达。

发型和慢性复发型;按Southerland疾病活动指数进行分期^[9],入选患者均为活动期;组织学分级1级7例,2级21例,3级12例。

2.2 IL-23、IL-17在不同病理组织学分级UC患者血浆中水平 活动期UC患者血浆中IL-23、IL-17表达水平高于对照组($639.79 \text{ ng/L} \pm 309.41 \text{ ng/L}$ vs $2231.27 \text{ ng/L} \pm 1623.87 \text{ ng/L}$, $P < 0.05$; 1.46 ± 0.22 vs 4.80 ± 4.33 , $P < 0.05$)。且随着病理组织学级别增加,IL-23、IL-17水平增高,其中组织学分级

为1、2级UC患者IL-23、IL-17水平虽高于对照组,但两组间差异无统计学意义($P > 0.05$,表1)。

2.3 不同病理组织学分级UC患者肠黏膜中IL-23、IL-17的表达 活动期UC肠黏膜组织中IL-23、IL-17表达明显高于对照组($P < 0.05$)。且随着病理组织学级别增加,IL-23、IL-17表达明显增多,且组间比较均有显著性差异($P < 0.05$,表2,图1)。

2.4 IL-23与IL-17表达相关性分析 UC患者结肠

■ 相关报道

Liu等研究显示UC肠黏膜IL-23p19主要表达于肠黏膜中的CD68⁺巨噬细胞,其表达数量明显高于健康对照组;同时,IL-23可刺激UC IEL分泌IL-17A。Fujino等研究发现,活动期UC血浆IL-17水平明显高于健康对照组;同时,IL-17表达于UC肠黏膜中CD3⁺T细胞、CD68⁺单核细胞及巨噬细胞,UC活动期IL-17表达数量明显高于缓解期;健康对照组、缺血性肠病、感染性结肠炎患者均无IL-17的阳性表达。

■创新盘点

已有研究显示 IL-23、IL-17 在 UC 患者中均表达增高,但其表达水平的变化与组织学分级是否相关,两细胞因子内部是否有关联性,尚无明确论述。本研究发现,IL-23、IL-17 不仅在血浆及肠黏膜组织中表达显著高于对照组,且随着组织学分级增高而表达水平升高;数据经检验分析,发现 IL-17 伴随 IL-23 表达增高而增高,两者呈显著直线正相关。

表 1 不同肠组织病理分级 UC 血浆中 IL-23、IL-17 的水平比较(mean ± SD, ng/L)

分组	IL-23	IL-17
对照组	639.79 ± 309.41	1.46 ± 0.22
UC 组	2231.27 ± 1623.87 ^a	4.80 ± 4.33 ^a
病理分级 1 级	1145.52 ± 175.83	2.02 ± 0.22
病理分级 2 级	1927.90 ± 1435.08 ^a	3.62 ± 3.18
病理分级 3 级	3395.51 ± 1784.18 ^{a,b}	8.50 ± 5.03 ^{a,b}

^a*P* < 0.05 vs 对照组; ^b*P* < 0.05 vs 轻度组; ^c*P* < 0.05 vs 中度组。IL: 白介素; UC: 溃疡性结肠炎。

黏膜及血浆中 IL-23 与 IL-17 表达水平经双变量相关分析,结果显示 *r* = 0.725, *P* < 0.01, 认为两者呈正向直线相关。

3 讨论

IL-23/IL-17 轴是近年来研究的热点,研究证实^[10-12],该轴与银屑病、原发性胆汁性肝硬化、闭塞性细支气管炎综合征等多种炎症反应及自身免疫相关性疾病的发病密切相关。在 UC 肠黏膜炎症中,IL-23、IL-17 在 IL-23/IL-17 轴中通过以下途径发挥致炎作用。当肠道内致病菌产物(如脂多糖 LPS、磷酸葡萄糖酸盐 PGN 等)与各自的 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)(分别是 TLR4 和 TLR2)结合,从而诱导 APC's(如被激活的树突状细胞、巨噬细胞等)分泌 IL-23。IL-23 与 Th17 细胞表面 IL-23R 结合,促使 Th17 细胞稳定、大量扩增,与此同时, Th17 细胞表达大量效应致炎细胞因子 IL-17。IL-17 促使血管内皮细胞分泌黏附分子(如: ICAM-1 等),使肌纤维细胞、上皮细胞分泌 IL-6、IL-8。IL-8 作为中性粒细胞浸入肠黏膜组织的趋化因子。中性粒细胞的浸润导致炎症介质(如基质金属蛋白酶)及诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)释放,这一系列过程最终导致肠道慢性炎症、上皮细胞的损伤,肠黏膜屏障破坏,形成 UC。其中 IL-23 通过 STAT3 信号通路介导,在 UC 的发病机制中起中枢性纽带作用。有学者推测 IL-23 是通过先激活固有免疫系统,然后后者再激活、诱导肠道局部的 T 细胞免疫应答,导致 UC 发病^[13]; IL-23 可激活 UC 患者肠黏膜上皮间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)、NK 细胞,促使其分泌相应的致炎细胞因子,调节炎症反应;还通过抑制 Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的发展来促进肠炎的发生^[14]。而 IL-17 是 UC 肠黏膜组

表 2 不同肠组织病理分级 UC 肠黏膜中 IL-23、IL-17 的表达(mean ± SD)

分组	IL-23	IL-17
对照组	0.17 ± 0.58	0.42 ± 1.00
UC 组	4.38 ± 1.27 ^a	4.88 ± 0.91 ^a
病理分级 1 级	3.00 ± 0.53 ^a	3.71 ± 0.76 ^a
病理分级 2 级	4.12 ± 1.15 ^{a,c}	4.81 ± 0.60 ^{a,c}
病理分级 3 级	5.58 ± 0.51 ^{a,b}	5.67 ± 0.65 ^{a,b}

^a*P* < 0.05 vs 对照组; ^b*P* < 0.05 vs 轻度组; ^c*P* < 0.05 vs 中度组。IL: 白介素; UC: 溃疡性结肠炎。

织炎症反应中重要的调节因子,他通过细胞外信号调节(extracellular regulated protein kinases, ERK)-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 NF-κB 通路发挥生物学效应,诱导 IL-6、粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子、细胞间黏附分子 1 等炎症相关基因表达,引起组织细胞浸润和组织破坏,导致肠道炎症。IL-23 作为 IL-23/IL-17 轴中炎症的始动因子,而 IL-17 则为核心致炎因子,促发炎症的级联放大,最终介导了肠道炎症的发生和肠黏膜的损伤。

Liu 等^[6]研究显示 UC 肠黏膜组织标本 IL-23p19 主要表达于肠黏膜的 CD68⁺ 巨噬细胞, IL-23p19 阳性细胞的百分比及 IL-23p19 mRNA 较健康对照组显著增高;同时,在 UC 肠黏膜中, IEL 的 IL-23R 表达明显增高, IL-23 可刺激 UC IEL 分泌更高水平的 IFN-γ、TNF、IL-2,同时分泌 IL-17A,而健康对照者的 IEL 经 IL-23 刺激无 IL-17A 的表达。而 Fujino 等^[5]对 UC 患者血浆及肠黏膜组织中的 IL-17 研究显示,活动期 UC 血浆 IL-17 水平明显高于健康对照组;同时, IL-17 表达于 UC 肠黏膜中 CD3⁺ T 细胞、CD68⁺ 单核细胞及巨噬细胞,活动期 UC IL-17 表达数量明显高于缓解期 UC;而健康对照组、缺血性肠病、感染性结肠炎患者中均无 IL-17 的阳性表达。IL-23、IL-17 在 UC 患者中均表达增高,但两者表达水平变化与 UC 患者肠黏膜组织学分级是否相关,以及两者内部关联性,尚无明确报道阐述证实。本研究发现, IL-23、IL-17 不仅在活动期 UC 血浆及肠黏膜组织中表达高于健康对照组,还随着组织学分级增高而表达增强,虽组织学分级 1、2 级的 UC 血浆中两致炎细胞因子较健康对照组表达水平增高,但无统计学意义,与相关研究结果^[15]证实 IL-23、IL-17 在中重度 UC 及克罗恩病(crohn's disease, CD)患者中显著表达吻合。且 IL-23 与

IL-17表达密切相关, 无论是在血浆中还是肠黏膜组织中IL-17均伴随IL-23升高而升高。

总之, IL-23/IL-17轴相关的细胞因子IL-23、IL-17在活动期UC患者血浆及肠黏膜组织中均高表达, 且随着UC肠黏膜组织学分级的增加而表达水平增高, 提示IL-23/IL-17轴的主要细胞因子IL-23、IL-17与UC肠道黏膜损伤程度密切相关, 在UC的发生发展中占据重要地位, 其具体的作用机制有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
- 2 Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, Powrie F, Maloy KJ. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 2006; 203: 2473-2483 [PMID: 17030949]
- 3 Fitzpatrick LR. Novel Pharmacological Approaches for Inflammatory Bowel Disease: Targeting Key Intracellular Pathways and the IL-23/IL-17 Axis. *Int J Inflam* 2012; 2012: 389404 [PMID: 22506136 DOI: 10.1155/2012/389404]
- 4 张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰. Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 19-26
- 5 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762]
- 6 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]
- 7 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 8 Atreya I, Atreya R, Neurath MF. NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2008; 263: 591-596 [PMID: 18479258 DOI: 10.1111/j.1365-2796]
- 9 Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med* 1987; 317: 1625-1629 [PMID: 3317057]
- 10 Vanaudenaerde BM, De Vleeschauwer SI, Vos R, Meyts I, Bullens DM, Reynders V, Wuyts WA, Van Raemdonck DE, Dupont LJ, Verleden GM. The role of the IL23/IL17 axis in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 1911-1920 [PMID: 18786233 DOI: 10.1111/j.1600-6143]
- 11 Qian C, Jiang T, Zhang W, Ren C, Wang Q, Qin Q, Chen J, Deng A, Zhong R. Increased IL-23 and IL-17 expression by peripheral blood cells of patients with primary biliary cirrhosis. *Cytokine* 2013; 64: 172-180 [PMID: 23910013 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.07.005]
- 12 Brunner PM, Koszik F, Reininger B, Kalb ML, Bauer W, Stingl G. Infliximab induces downregulation of the IL-12/IL-23 axis in 6-sulfo-LacNac (sIa)(+) dendritic cells and macrophages. *J Allergy Clin Immunol* 2013 Jul 25. [Epub ahead of print] [PMID: 23890755 DOI: 10.1016/j.jaci.2013.05.036]
- 13 Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371-1375 [PMID: 20393462 DOI: 10.1038/nature08949]
- 14 Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Cárcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.019]
- 15 Higa S, Suzuki T, Hayashi A, Tsuge I, Yamamura Y. Isolation of catecholamines in biological fluids by boric acid gel. *Anal Biochem* 1977; 77: 18-24 [PMID: 12678]

■同行评价

本文具有一定的科学性和可读性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义

刘楠启, 孟胜男, 刘莹

■背景资料

结直肠癌发病率及死亡率在近几十年间快速升高, 肿瘤进展决定在很大程度上决定了患者的预后生存时间, 特异性标志物的确定有助于肿瘤的治疗及预后的评估, miRNA-625即是本研究待确定的标志物。

刘楠启, 刘莹, 中国医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室 辽宁省沈阳市 110001

孟胜男, 中国医科大学药学院药剂教研室 辽宁省沈阳市 110001

刘楠启, 主要从事生物化学与分子生物学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173123

作者贡献分布: 课题设计与试剂提供由刘莹与孟胜男完成; 研究过程、数据分析及论文写作由刘楠启完成。

通讯作者: 刘莹, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区北二马路92号, 中国医科大学生物化学与分子生物学教研室。

yingliucmu@gmail.com

电话: 024-23256666

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-16

接受日期: 2013-09-20 在线出版日期: 2013-10-18

Clinical significance of microRNA-625 expression in colorectal cancer

Nan-Qi Liu, Sheng-Nan Meng, Ying Liu

Nan-Qi Liu, Ying Liu, Department of Biochemistry and Molecular Biology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Sheng-Nan Meng, Department of Pharmaceutics, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173123

Correspondence to: Ying Liu, Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, China Medical University, 92 Beier Road, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. yingliucmu@gmail.com

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-16

Accepted: 2013-09-20 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To analyze the association of expression of microRNA-625 (miR-625) with clinicopathological characteristics and survival in patients with colorectal cancer (CRC).

METHODS: The expression level of miR-625 was determined by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (qRT-PCR) in 78 human colorectal cancer tissue specimens and matched tumor-adjacent colorectal tissue specimens. The association of miR-625 expression with clinicopathological characteristics and survival in CRC patients was then analyzed.

RESULTS: Compared with tumor-adjacent normal mucosal specimens, miR-625 was significantly down-regulated in CRC tissue specimens (2.748 vs 0.769, $P = 0.021$). MiR-625 expression was decreased in CRC cell lines HCT116 and SW480 compared with Caco-2 cell line, which has a lower metastatic potential (0.634, 0.941 vs 2.048, both $P < 0.05$). Lower expression of miR-625 was positively associated with advanced lymph node metastasis, liver metastasis and overall survival (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Our results suggest that miR-625 may serve as an efficient clinical biomarker and a potential therapeutic target for the inhibition of metastasis in CRC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: miR-625; Colorectal cancer; qRT-PCR

Liu NQ, Meng SN, Liu Y. Clinical significance of microRNA-625 expression in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3158-3162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3158>

摘要

目的: 了解microRNA-625(miR-625)在结直肠癌组织中的表达情况及其与肿瘤临床病理参数及生存率的相关性。

方法: 应用定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction, qRT-PCR)技术检测78对结直肠癌及癌旁正常组织以及结直肠癌细胞系中miR-625的表达, 统计学分析其表达水平与肿瘤临床病理参数及生存率的关系。

结果: 结直肠癌组织及癌旁正常黏膜组织中miR-625表达水平分别为 0.769 ± 0.372 和 2.748 ± 0.923 , 癌组织中表达显著下调, $P = 0.021$ 。结直肠癌细胞系HCT、SW480中miR-625表达水平分别为0.634和0.941, 表达水平与低转移潜能细胞系Caco-2中表达水平具显著差异, $P < 0.05$ 。

■同行评议者

刘炳亚, 研究员, 上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

miR-625的低表达与晚期淋巴结转移, 肝转移密切相关, P 值均小于0.05. 随访数据提示miR-625低表达结直肠癌患者5年生存率较低.

结论: 结直肠癌组织及肿瘤细胞系中miR-625低表达, 其低表达与结直肠癌侵袭转移密切相关, 且提示较差的预后.

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司

关键词: miR-625; 结直肠癌; qRT-PCR

核心提示: 应用定量PCR的方法检测结直肠癌肿瘤组织及对应癌旁组织以及3种肿瘤细胞系中miR-625的表达, 研究结果提示miR-625的下调与肿瘤的侵袭转移特性密切相关, 且低表达导致更差的预后.

刘楠启, 孟胜男, 刘莹. 结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3158-3162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3158>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一, 最近几十年间其发病率和死亡率显著升高^[1]. 目前, 尽管外科手术技术和药物化疗手段均有了长足的进步, 结直肠癌患者的5年生存率依然主要取决于肿瘤的进展^[2]. 因此, 寻找肿瘤特异性生物学标记分子以期达到检测肿瘤治疗效果及预测肿瘤预后成为目前研究的重点.

MicroRNA(miRNA)是一类小分子量, 内源性非编码的RNA分子, 广泛存在于真核生物中, 进化上相对保守, miRNA通过降解mRNA或抑制翻译达到转录后调控目的基因表达的功能^[3]. 近来研究证实miRNA可起到肿瘤抑制因子或原癌基因的作用, 在多种肿瘤生物和病理学进程中发挥重要作用. 异常的miRNA表达可能成为恶性肿瘤诊断和预后的潜在标志物^[4].

研究发现miR-625在多种肿瘤中异常表达^[5,6], 目前国内尚没有miR-625与结直肠癌相关性方面的报道, 本研究旨在了解结直肠癌组织及肿瘤细胞系中miR-625表达情况, 并研究其表达与肿瘤临床病理参数以及生存率的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-01/2007-08在本院胃肠外科接受手术治疗的78例结直肠癌患者, 其中男42例, 女36例, 年龄62岁 \pm 10.23岁, 所有病例术前均未行放

疗或化疗, 术后经病理确诊, 详细临床病理参数如表1所示. 同时收集距肿瘤边缘>10 cm的78例癌旁正常组织作为对照. 所有受试对象均参加每3月一次的随访计划, 随访采用电话随访的方式与患者或家属取得联系, 计算平均生存期和生存率. 标本的制备与分析获得本院伦理委员会批准并在委员会监督下进行, 所有受试对象均知情同意. 本研究选取SW480、HCT116和Caco-2 3种结直肠癌细胞系, 使用包含血清的培养基, 37 °C, 50 mL/L CO₂条件下培养.

1.2 方法

1.2.1 RNA提取: 细胞系及石蜡包埋组织样本的总RNA提取使用TRIzol(Invitrogen公司)试剂和RecoverAll全核酸提取试剂盒(ABI公司). 所得RNA经紫外分光光度计检测260 nm波长处的光密度值, 计算RNA浓度. $A_{260/280}$ 决定RNA纯度, 比值在1.8-2.1之间说明质量较好. RNA样本立即放入-80 °C冰箱保存或者立即进行逆转录.

1.2.2 定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction, qRT-PCR)分析miRNA-625的表达: 取包含miRNA的RNA样本40-500 ng, 先经多聚腺苷酸聚合酶加poly A, 继而应用One Step PrimeScript miRNA cDNA合成试剂盒(TAKARA公司)行逆转录得到cDNA. 定量PCR反应使用SYBR Premix Ex Taq试剂盒, 应用Primer Premier 6.0自行设计miRNA特异性上游引物, 下游引物试剂盒提供. 使用U6作为内参照, 两者上游引物序列如下: 5'-CCAGGGGAAAGTTCTATAGTCC-3'(miR-625)和5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'(U6). 相对表达量以U6 snRNA的表达量为标准, 应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行分析.

统计学处理 数据分析采用SPSS17.0软件包, 计量资料以mean \pm SD表示, miR-625表达量比较采用配对资料 t 检验, 生存分析应用Kaplan-Meier法, 生存率比较采用Log-rank检验. 所有检验结果以 $P<0.05$ 为差异具统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌、癌旁正常组织以及细胞系中miR-625表达结果 定量PCR反应扩增产物特异, 无引物二聚体或其他非特异性产物, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算得出, miR-625在结直肠癌组织和正常组织中的相对表达量分别为(0.769 \pm 0.372)和(2.748 \pm 0.923), 差异具有统计学意义($P=0.021$). 此外, 3种CRC细胞系检测结果显示, HCT116、

■ 研发前沿

目前国内外研究者报道多种miRNA在众多肿瘤组织及细胞系中的表达情况, 亟待解决miRNA发挥作用的具体机制.

■ 相关报道

Wang等研究者发现miR-625在胃癌中表达显著下调, 体内体外实验均提示miR-625具有抑制肿瘤侵袭及转移的能力, 且提出整合素偶联激酶(integrin linked kinase, ILK)是miR-625作用靶点. Korpai等研究发现miR-200家族成员具有抑制肿瘤细胞迁移和上皮间质转化的能力, 其作用靶点为ZEB1和ZEB2.

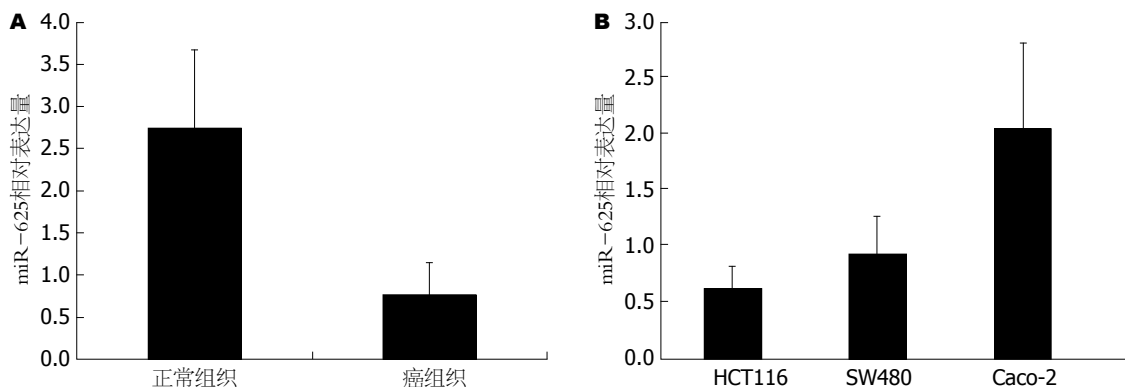


图1 结直肠癌组织与癌旁正常组织中以及细胞系中miR-625表达水平. A: 癌组织与癌旁正常组织miR-625表达水平对比; B: HCT116、SW480及Caco-2细胞系miR-625表达水平. CRC: 结直肠癌.

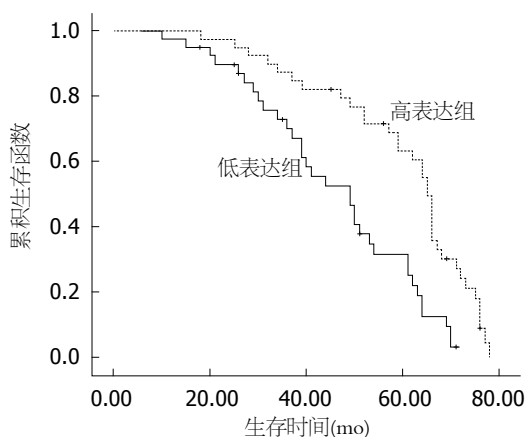


图2 结直肠癌患者miR-625高表达组及低表达组生存曲线.

SW480中miR-625表达水平显著低于低转移潜能的Caco-2细胞系, $P < 0.05$ (图1).

2.2 miR-625表达与肿瘤临床病理参数相关性分析 结直肠癌78例患者miR-625表达水平与肿瘤病理参数分析结果显示, 其低表达与肿瘤淋巴结及肝脏转移情况密切相关, 具有统计学意义 ($P < 0.05$) (表2).

2.3 miR-625表达水平与患者生存时间的关系 miR-625表达与患者预后的关系 78例结直肠癌患者依照miR-625表达水平的均值0.769分为高表达组和低表达组, 每组均39例. 低表达组5年生存率25.6%, 平均生存时间46.025 mo \pm 2.781 mo (95%CI: 40.575-51.475), 高表达组5年生存率59.0%, 生存时间59.863 mo (95%CI: 54.718-65.009), 生存曲线如图2所示.

3 讨论

结直肠癌是目前发病率增长最快的恶性肿瘤之一, 预后不佳严重影响患者生活质量. 近年来, 遗传因素在结直肠癌发生、发展过程中所起到

表1 结直肠癌患者病理资料(n)

病理参数	n
性别	
男	42
女	36
年龄(岁)	
<60	18
≥ 60	60
肿瘤直径(cm)	
<5	40
≥ 5	38
分化程度	
高-中分化	55
低中分化	23
转移情况	
淋巴结转移N0	43
淋巴结转移 N1-N2	35
肝转移	67
无肝转移	11

的作用越来越引起研究者的重视^[7]. 为了最终达到改进临床治疗策略, 改善疾病治疗效果, 非常有必要确定新的结直肠癌诊断、预后以及治疗的分子靶点. 研究发现, 一些miRNA在结直肠癌组织中表达异常^[8-10], 这些小分子量的非编码核苷酸序列可能在肿瘤发生发展过程中发挥肿瘤抑制因子的作用, 这一结果提示对于结直肠癌, miRNA可能作为其诊断和预后的分子标志物.

目前虽有许多人类肿瘤组织中一些miRNA的表达水平的研究^[11,12], 但少见miRNA表达与肿瘤分期分级相关分析, 国内未见miR-625与结直肠癌之间相关性的研究, 此外本研究应用敏感性更高的定量分析手段检测miR-625在结直肠癌组织及细胞系中的表达情况, 并进一步分析

表 2 miR-625表达与结直肠癌临床病理参数的关系

病理参数	n	miR-625表达量	P值
淋巴结转移			0.024
N0	43	1.373 ± 0.673	
N1-N2	35	0.642 ± 0.212	
肝转移			0.015
存在	67	0.723 ± 0.326	
不存在	11	1.543 ± 0.534	

其表达水平与临床病理参数的相关性以及与生存率的关系。

本研究发现, 对比正常癌旁组织和转移潜能相对较低的细胞系, 结直肠癌组织和高转移潜能肿瘤细胞系中miR-625表达水平明显下降, 研究结果与胃癌、乳腺癌及急性淋巴细胞白血病等肿瘤中的研究结果相一致。此外, 统计分析结果显示, miR-625的低表达与结直肠癌的转移特性密切相关, 包括淋巴结转移以及肝脏转移。病例组中, 表达水平相对较高的39例患者有着更高的5年生存率和中位生存时间。依据所得结果, 我们推断miR-625表达下调是影响结直肠癌预后重要的分子机制, 其下调可能参与结直肠癌转移过程。

近年来, miRNA引起了众多学者的关注, 近期更是在肿瘤组织中频发miRNA的异常表达。目前, 已有千余miRNA被发现, 这类保守的非编码小分子在肿瘤发生发展中的作用可能包括: miRNA具有调控特异性mRNA表达的功能, 通过降解目的mRNA或是抑制其翻译达到下调特定基因表达的功能, 目前研究的多数肿瘤组织中miRNA均呈现低表达, 提示miRNA发挥抑制肿瘤发生发展的作用^[13,14]; miRNA可能参与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程, EMT是人体器官发育的正常生理过程, 他赋予细胞侵袭和转移能力, miRNA可负性调控EMT相关基因的表达^[15,16], 使得肿瘤细胞获得更强的侵袭力和转移能力, 这与本研究得出结果相一致。病例组中, miR-625表达量相对较低的患者因肿瘤的转移力更强, 淋巴结及肝脏的转移可能在一定程度上影响了患者的生存率。

尽管本研究纳入足够的样本数量, 为了明确证实miR-625是结直肠癌特异标志物, 还需要大规模的前瞻性研究。此外, 还需要更加深入的机制研究来揭示结直肠癌发生发展过程中miR-625的下调是如何影响到肿瘤的侵袭与转移功能。

总之, 结直肠癌和高转移潜能的细胞系中miR-625表达下调, 其低表达与肿瘤的转移密切相关并导致较差的预后。结果提示miR-625可能成为潜在的结直肠癌转移力特异标志物及治疗靶点。

4 参考文献

- Yeoh KG, Ho KY, Chiu HM, Zhu F, Ching JY, Wu DC, Matsuda T, Byeon JS, Lee SK, Goh KL, Sollano J, Rerknimitr R, Leong R, Tsoi K, Lin JT, Sung JJ. The Asia-Pacific Colorectal Screening score: a validated tool that stratifies risk for colorectal advanced neoplasia in asymptomatic Asian subjects. *Gut* 2011; 60: 1236-1241 [PMID: 21402615 DOI: 10.1136/gut.2010.221168]
- Weeks JC, Catalano PJ, Cronin A, Finkelman MD, Mack JW, Keating NL, Schrag D. Patients' expectations about effects of chemotherapy for advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 367: 1616-1625 [PMID: 23094723 DOI: 10.1056/NEJMoa1204410]
- Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in Drosophila. *Cell* 2003; 113: 25-36 [PMID: 12679032]
- Farazi TA, Spitzer JJ, Morozov P, Tuschl T. miRNAs in human cancer. *J Pathol* 2011; 223: 102-115 [PMID: 21125669 DOI: 10.1002/path.2806]
- Wang M, Li C, Nie H, Lv X, Qu Y, Yu B, Su L, Li J, Chen X, Ju J, Yu Y, Yan M, Gu Q, Zhu Z, Liu B. Down-regulated miR-625 suppresses invasion and metastasis of gastric cancer by targeting ILK. *FEBS Lett* 2012; 586: 2382-2388 [PMID: 22677169 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.05.050]
- Si H, Sun X, Chen Y, Cao Y, Chen S, Wang H, Hu C. Circulating microRNA-92a and microRNA-21 as novel minimally invasive biomarkers for primary breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 223-229 [PMID: 23052693 DOI: 10.1007/s00432-012-1315-y]
- Dutilh BE, Backus L, van Hijum SA, Tjalsma H. Screening metatranscriptomes for toxin genes as functional drivers of human colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27: 85-99 [PMID: 23768555 DOI: 10.1016/j.bpg.2013.03.008]
- Zhang Y, Wang X, Xu B, Wang B, Wang Z, Liang Y, Zhou J, Hu J, Jiang B. Epigenetic silencing of miR-126 contributes to tumor invasion and angiogenesis in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2013; 30: 1976-1984 [PMID: 23900443 DOI: 10.3892/or.2013.2633]
- Mlcochova J, Faltejskova P, Nemecek R, Svoboda M, Slaby O. MicroRNAs targeting EGFR signaling pathway in colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1615-1624 [PMID: 23817698 DOI: 10.1007/s00432-013-1470-9]
- Karaayvaz M, Zhai H, Ju J. miR-129 promotes apoptosis and enhances chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Cell Death Dis* 2013; 4: e659 [PMID: 23744359 DOI: 10.1038/cddis.2013.193]
- 张子兰, 贾筱琴. miRNA在肝癌发生与转移中的研究进展. *现代肿瘤医学* 2013; 21: 887-891
- 刘志鹏, 王宗华, 卢斌, 胡春燕, 李学成, 邹利全, 张方征, 陈陵. 腺病毒介导miRNA-29a过表达抑制人胃癌细胞的增殖. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2013; 20: 312-316

■创新盘点

肿瘤细胞中miR-NA表达情况比较复杂, 有些上调, 有些则表达下调, 目前国内尚无结直肠癌中miR625表达研究报道。

■同行评价

本文检测78例结肠直肠癌肿瘤组织及其对应癌旁组织中miR-625的表达,并分析了miR-625表达与结肠癌患者的临床病理参数的关系,表明肿瘤组织中miR625表达与患者生存期相关,与肿瘤是否伴有淋巴结以及肝转移相关。

- 13 Wuchty S, Arjona D, Bauer PO. Important miRs of pathways in different tumor types. *PLoS Comput Biol* 2013; 9: e1002883 [PMID: 23358700 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002883]
- 14 Druz A, Chen YC, Guha R, Betenbaugh M, Martin SE, Shiloach J. Large-scale screening identifies a novel microRNA, miR-15a-3p, which induces apoptosis in human cancer cell lines. *RNA Biol* 2013; 10: 287-300 [PMID: 23353574 DOI: 10.4161/rna.23339]
- 15 Korpai M, Lee ES, Hu G, Kang Y. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem* 2008; 283: 14910-14914 [PMID: 18411277 DOI: 10.1074/jbc.C800074200]
- 16 Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev* 2008; 22: 894-907 [PMID: 18381893 DOI: 10.1101/gad.1640608]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志,旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章,使其成为一种公众资源,同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文,了解其领域的所有的关键的进展,更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务,为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外,《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾,即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲,包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤,食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学,以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章,为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台,更新知识,为患者康复服务。

术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌的临床疗效

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉, 郑州大学第一附属医院胃肠外科 河南省郑州市 450052

董新华, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本课题由张谢夫设计; 研究过程由董新华、杨振及刘光辉完成; 数据分析由董新华与杨振完成; 本论文写作由董新华完成。

通讯作者: 张谢夫, 教授, 450052, 河南省郑州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院胃肠外科. zhangxiefu@medmail.com.cn
电话: 0371-67967131

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-10-18

Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II/III rectal cancer

Xin-Hua Dong, Xie-Fu Zhang, Zhen Yang, Guang-Hui Liu

Xin-Hua Dong, Xie-Fu Zhang, Zhen Yang, Guang-Hui Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Xie-Fu Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. zhangxiefu@medmail.com.cn

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision (TME) in the treatment of stage II/III rectal cancer.

METHODS: One hundred and twelve patients with stage II/III rectal cancer, who were hospitalized in Department of Gastrointestinal Surgery of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2006 to December 2011 were collected and equally divided into two groups to receive either preoperative radiochemotherapy combined with TME (group A) or TME alone (group B). The R0 resection rate, anal preservation rate, local recurrence rate and long-term survival rate were compared between the two groups.

RESULTS: There were significant differences in R0 radical resection rate (91.1% vs 75%, $P < 0.05$) and anal preservation rate (64.7% vs 26.3%, $P < 0.05$) between the two groups, although no significant difference was observed in the rates of anastomotic leakage (6.0% vs 4.8%, $P > 0.05$) and poor healing of incision (12.5% vs 8.9%, $P > 0.05$). The 3-year local recurrence rate was significantly lower in group A than in group B (8.9% vs 26.8%, $P < 0.05$), but there were no significant differences in the 3-year survival rate (80.4% vs 71.4%, $P > 0.05$) or 5-year survival rate (57.1% vs 53.6%, $P > 0.05$) between the two groups.

CONCLUSION: Preoperative chemoradiotherapy can increase the rates of R0 radical resection and anal preservation but can not increase the rate of complications. Preoperative chemoradiotherapy combined with TME can significantly reduce the 3-year local recurrence rate but can not improve the long-term survival rate.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Preoperative radiotherapy; Total mesorectal excision; Local recurrence rate; Long-term survival rate

Dong XH, Zhang XF, Yang Z, Liu GH. Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II/III rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3163-3167 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3163>

摘要

目的: 分析术前同步放化疗联合全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)手术治疗II/III期直肠癌的安全性、有效性。

方法: 收集郑州大学第一附属医院胃肠外科2006-01/2011-12收治的112例TME治疗的II/III期直肠癌患者的临床病例资料, 其中接受术前同步放化疗联合TME手术治疗的为A组($n = 56$), 单纯行TME手术者为B组($n = 56$),

■背景资料

直肠癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤之一, 对于直肠癌的治疗目前多数多采用单纯手术治疗, 术后生存率依然不太令人满意, 且术后并发症较高, 故何种方式更好的解决直肠癌, 各科医师都在持续关注。

■同行评议者

李革, 副教授, 吉林省延吉市延边大学附属医院

■ 研究前沿

本文采用术前放化疗联合TME手术方式研究直肠癌的生存预后及术后并发症,以期能找到更好地应对直肠癌办法。

比较分析两组的术后并发症、R0切除率、保肛率、局部复发率和远期生存率。

结果: 两组患者R0切除率(91.7% vs 75%)和保肛率(64.7% vs 26.3%)存在显著差异($P<0.05$); 两组患者术后吻合口瘘(6.0% vs 4.8%)和切口愈合不良(12.5% vs 8.9%)发生率无显著差异($P<0.05$); 两组患者3年局部复发率分别为8.9%和26.8%, A组明显低于B组($P<0.05$), 两组患者3年生存率(80.4% vs 71.4%)和5年生存率(57.1% vs 53.6%)均无显著性差异($P>0.05$)。

结论: 术前放同步放化疗可以提高手术R0切除率和保肛率而不增加患者术后并发症的发生率。术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌可以明显降低3年局部复发率,但是并不能明显改善患者远期生存预后。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 术前同步放化疗; 全直肠系膜切除术; 局部复发率; 远期生存率

核心提示: 局部进展期直肠癌术前放化疗可提高R0切除率和保肛率,降低局部复发率,全直肠系膜切除术理论上可以使直肠癌手术达到根治效果与传统手术相比,术前同步放化疗联合TME能更好地提高R0切除率,降低直肠癌局部复发率及泌尿系统功能的损伤。

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉. 术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3163-3167 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3163>

0 引言

近年来随着对直肠癌生物学行为的深入研究、新辅助治疗理念的提出、外科手术方式的改进、吻合器械的应用以及术后辅助治疗的进展,直肠癌预后得到了明显的改善,但是局部复发和远处转移是直肠癌治疗失败的两大主要原因^[1,2]。随着全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)^[3]和新辅助治疗的提出,直肠癌的治疗效果有了很大改观。本文旨在通过回顾性分析既往接受术前放化疗联合TME治疗方案的II/III期直肠癌患者的病例资料,总结临床经验,探讨此治疗方案的安全性和有效性,为其推广应用提供更多有利的临床证据,以期更好地指导临床治疗决策,进一步改善直肠癌患者的生活质量和预后。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院胃肠外科2006-01/2011-12收治的112例TME治疗的II/III期直肠癌患者的临床病例资料,其中接受术前同步放化疗联合TME手术治疗方案的为A组($n=56$),单纯行TME手术者为B组($n=56$)。两组患者基本情况及肿瘤距肛缘的距离详见表1。所有病例均经肠镜病理证实为直肠腺癌。患者纳入标准: (1)术前肠镜病理确诊为直肠腺癌,硬质直肠镜检查肿瘤下缘距肛缘距离 ≤ 10 cm; (2)术前CT分期为II期(淋巴结阴性,肿瘤穿透肠壁肌层)和III期(淋巴结阳性,无远处转移)的直肠癌患者; (3)接受术前放化疗联合TME手术治疗方案或按TME原则单纯行手术治疗的直肠癌患者; (4)所有患者均知情同意,遵循自愿原则,该临床研究报我院伦理委员会批准同意后进行。

1.2 方法

1.2.1 术前同步放化疗: 术前化疗方案采用FOLFOX6方案,即奥沙利铂85 mg/m²静脉滴注2 h,第1天亚叶酸钙400 mg/m²静脉滴注2 h,然后氟尿嘧啶(flourouracil, 5-FU)400 mg/m²静脉推注不小于10 min,之后5-FU 1200 mg/(m²·d)×2静脉滴注持续46-48 h为一疗程,每2 wk重复,术前进行2疗程化疗。于化疗开始第1天同步进行放疗,放疗方案采用常规分割放疗,总剂量36-40 Gy,每次1.8-2.0 Gy,每周5次,共4 wk。

1.2.2 手术方式: 术前放化疗结束后间隔4 wk在我科进行手术, A组与B组直肠癌患者的手术均由同等资质、同等技术水平的医生完成。A组患者实施手术前复查血常规、肝肾功等生化检查以及盆腔CT,了解有无手术禁忌症,对直肠癌病变重新进行术前评估分期。手术方式有腹会阴联合直肠癌切除术(Miles手术)、经腹直肠癌切除术(Dixon手术)和经腹直肠癌切除、近端造口、远端封闭手术(Hartmann手术),无一例患者行预防性造瘘术,术中均遵循TME手术原则,肠管吻合均采用同一厂家同类型吻合器械。

1.2.3 术后辅助治疗: A组患者无论术后病理结果如何,均接受FOLFOX6化疗方案进行术后辅助治疗^[4]。B组患者根据术后病理情况,如果术后病理提示恶性程度高、淋巴结转移比例高(N2)或者有血管、神经侵犯等情况,且病人条件允许,给予FOLFOX6方案进行术后辅助治疗。否则均参照NCCN结直肠癌指南(2012中国版)^[5]给予对症处理。

1.2.4 术后治疗监测及随访: 术后每次辅助化疗

表 1 两组患者基本情况及肿瘤距肛缘位置

分组	性别(n)		年龄(岁)		肿瘤位置(下缘距肛缘)			
	男	女	分布	平均	距离(cm)		患者分布(n)	
					平均	中位	距离≤6 cm	距离>6 cm
A组	30	26	36-75	51	2.5-8.0	5.5	38	18
B组	35	21	40-78	55	2-9	5	36	20

A组: 术前放化疗联合TME手术患者基本情况及肿瘤最下缘距肛缘的距离; B组: 单纯行TME手术患者基本情况及肿瘤最下缘距肛缘的距离。

表 2 两组患者R0切除率和保肛率的比较 (%)

分组	A组	B组	χ^2	P值
R0切除率	91.1	75.0	5.134	0.023
保肛率	64.7	26.3	5.355	0.021

A组: 术前放化疗联合TME术后患者R0切除率和保肛率; B组: 单纯行TME术后患者R0切除率和保肛率。

表 3 两组患者术后并发症发生率的比较 (%)

分组	A组	B组	χ^2	P值
切口愈合不良	12.5	8.9	0.373	0.541
吻合口瘘	6.0	4.8	0.061	0.805

A组: 术前放化疗联合TME术后患者并发症的发生率; B组: 单纯行TME术后患者并发症的发生率。

之前复查血常规、肝肾功能和肿瘤标志物, 在最初的2年应每3 mo一次病史询问和系统的体格检查, 然后每6 mo 检查1次, 总共5年. 对于II/III期直肠癌患者, 在最初的3-5年内每年至少进行一次胸、腹和盆腔CT扫描检查. 随访采用住院复查、门诊随访和电话随访. 随访终止日期为2012-12-31.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, 计数资料采用 χ^2 检验和Fisher确切概率法进行统计学分析, 生存分析采用Kaplan-Meier法和Log-rank检验进行统计学处理, 本研究中 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后结果比较

2.1.1 两组患者手术R0切除率和保肛率的比较: A组与B组所有患者肿瘤两端切缘术中快速病理活检均为阴性, A组56例患者均获得手术切除, 有5例患者术后系统病理检查CRM阳性, R0切除率为91.1%(51/56). 新辅助治疗前有17例患者肿瘤拟行Miles手术, 而最终只有6例实施了Miles手术, 保肛率为64.7%(11/17), 其余病例均行Dixon手术. B组56例患者也均获得手术切除, 有14例患者术后病理证实CRM阳性, R0切除率为75%(42/56). 手术前有19例患者拟行Miles手术, 而最终根据术中探查情况仅有5例实施了保肛手术, 有1例患者因为年龄较大, 身体

一般状况较差实施了Hartmann手术, 保肛率为26.3%(5/19). 两组患者R0切除率和保肛率的统计学差异如表2.

2.1.2 术后短期并发症的比较: 手术后A组患者出现7例切口愈合不良(12.5%), 3例超低位吻合口瘘(6.0%). B组患者出现5例切口愈合不良(8.9%), 包括3例会阴部积液, 2例低位吻合口瘘(4.8%), 发生吻合口瘘的患者经积极给予营养支持、局部通畅冲洗引流及给予抗生素等保守治疗后均于1 mo内闭瘘. 两组患者术后切口愈合不良和吻合口瘘的发生率无显著差异(表3). 术后短期内出现排尿功能障碍者9例, 均于术后7-10 d天恢复正常. 65例男性患者中, 有3例患者出现性功能障碍, 其中2例表现为勃起障碍, 1例失访.

2.2 随访结果 两组患者术后3年局部复发率的比较: A组与B组均获随访, A组随访时间16-80 mo, 中位随访时间为55 mo, 6位患者失访, 失访率为10.7%(6/56); B组患者随访时间为12-80 mo, 中位随访时间为50 mo, 5位患者失访, 失访率为8.9%(5/56). 随访于2012-12-31或患者死亡时间或失访时间终止. A组患者术后随访3年有5例出现局部复发, 1例发生远处转移至肝脏, 局部复发率为8.9%(5/56); B组患者后随访3年有15例出现局部复发, 有3例因转移至肝脏而死亡, 局部复发率为26.8%(15/56). 两组患者3年复发率比较有显著差异($\chi^2=6.087, P=0.014$), A组治疗组3年局部复发率明显低于B治疗组(8.9% vs 26.8%).

■创新盘点

现很多文章单一从放化疗或者单一手术去治疗直肠癌, 进而去评估其生存率、并发症, 结论都比较单一; 而本文采取术前同步放化疗联合TME手术方式去论证直肠癌的生存率及其并发症, 为以后寻找直肠癌更合理的方式提供了借鉴。

■应用要点

术前放化疗已成为直肠癌的标准治疗模式,全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)理论上可以使直肠癌手术达到根治效果,所以术前放化疗结合TME势必会成为直肠癌治疗的主流趋势。

表 4 两组患者的1年、3年、5年累计生存率

分组	累计生存率(%)			期内死亡人数(n)		
	1年	3年	5年	1年	3年	5年
A组	100	80.4	57.1	0	11	24
B组	100	71.4	53.6	0	16	26

A组: 术前放化疗联合TME术后患者1、3、5年累计生存率; B组: 单纯行TME术后患者1、3、5年累计生存率。

2.2.2 两组患者术后的生存率估计和生存曲线比较: 对两组患者的随访资料应用Kaplan-Meier法和Log-rank检验进行生存分析估计和生存曲线比较。两组患者3年生存率($\chi^2 = 1.220$, $P = 0.269$)和5年生存率($\chi^2 = 0.145$, $P = 0.704$)均无显著性差异(表4, 图1)。

3 讨论

直肠癌是我国常见的消化系恶性肿瘤之一,近年来其发病率呈上升趋势,严重危害了人类的身心健康。近年来随着对直肠癌生物学行为的深入研究、新辅助治疗理念的提出、外科手术方式的改进、吻合器械的应用以及术后辅助治疗的进展,直肠癌预后得到了明显的改善,但是局部复发和远处转移是直肠癌治疗失败的两大主要原因。随着TME和新辅助治疗的提出,直肠癌的治疗效果有了很大改观^[6]。

局部进展期直肠癌术前放化疗可降低肿瘤分期,提高R0切除率和保肛率,降低局部复发率,可以说已经成为综合治疗的标准模式^[7,8]。术前由于肿瘤血供较好切肿瘤组织含氧量较高,可以提高放疗效果和局部化疗药物浓度;且可以同时控制和消灭临床或亚临床的微小病灶^[9],所以术前放化疗可以提高R0切除率。TME并不是一种手术方式,而是直肠癌手术中坚持的一种原则。TME理论上可以使直肠癌手术达到根治效果,大量的临床研究也证实了TME在降低直肠癌局部复发率中的价值, TME的另一优势在于直视下锐性分离可以更好地保护盆腔自主神经,减少直肠癌术后的泌尿生殖功能障碍。TME强调的是环绕直肠锐性剥离直肠系膜,切除直肠远端系膜不少于5 cm或全部系膜,癌肿肛侧肠管切线距癌肿远端不少于2 cm。故与传统手术相比,术前同步放化疗联合TME能更好地提高R0切除率,降低直肠癌局部复发率及泌尿系统功能的损伤^[10-12]。

术前同步放化疗联合手术根治切除的多学

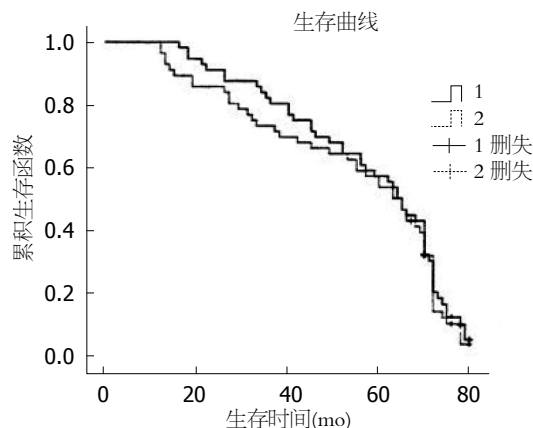


图 1 两组患者的生存曲线。1: 术前放化疗联合TME; 2: 单纯手术TME。

科综合治疗可以降低肿瘤分期^[13], 提高保肛率、降低局部复发率, 但是均未改善总体生存^[14,15]。两组患者的生存曲线如图1, 3年、5年生存率分别为80.4%、57.1%和71.4%、53.6%, 远期生存无显著差异, 与Glynne-Jones等^[15]的研究结果相符。虽没有统计学差异, 但是从生存曲线上可以看出, 术后5年内, A组生存曲线位于B组上方。可见术前同步放化疗联合TME治疗 II / III期直肠癌其优势明显高于单纯手术者, 但是术前同步放化疗联合TME治疗 II / III期直肠癌最终能否改善5年生存率尚需进一步临床研究。

4 参考文献

- Bonadeo FA, Vaccaro CA, Benati ML, Quintana GM, Garione XE, Telenta MT. Rectal cancer: local recurrence after surgery without radiotherapy. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 374-379 [PMID: 11289283 DOI: 10.1007/BF02234736]
- Roh MS, Colangelo LH, O'Connell MJ, Yothers G, Deutsch M, Allegra CJ, Kahlenberg MS, Baez-Diaz L, Ursiny CS, Petrelli NJ, Wolmark N. Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5124-5130 [PMID: 19770376 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.0467]
- Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg* 1982; 69: 613-616 [PMID: 6751457 DOI: 10.1002/bjs.1800691019]
- Hofheinz RD, Wenz F, Post S, Matzdorff A, Laechelt S, Hartmann JT, Müller L, Link H, Moehler M, Kettner E, Fritz E, Hieber U, Lindemann HW, Grunewald M, Kremers S, Constantin C, Hipp M, Hartung G, Gencer D, Kienle P, Burkholder I, Hochhaus A. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 579-588 [PMID: 22503032 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70116-X]
- National Comprehensive Cancer Network(NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology-

- Rectal Cancer. Available from: URL: http://www.nccn.org/professional/physician_gls/pdf/rectal.pdf
- 6 Braendengen M, Tveit KM, Berglund A, Birkemeyer E, Frykholm G, Pahlman L, Wiig JN, Byström P, Bujko K, Glimelius B. Randomized phase III study comparing preoperative radiotherapy with chemoradiotherapy in nonresectable rectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3687-3694 [PMID: 18669453 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.3858]
 - 7 Pucciarelli S, Del Bianco P, Efficace F, Serpentine S, Capirci C, De Paoli A, Amato A, Cuicchi D, Nitti D. Patient-reported outcomes after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: a multicenter prospective observational study. *Ann Surg* 2011; 253: 71-77 [PMID: 21135694 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181fcb856]
 - 8 任烨. 术前同步放化疗是直肠癌标准治疗模式. 实用肿瘤杂志 2013; 28: 20-23
 - 9 Gérard JP, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin MT, Untereiner M, Leduc B, Francois E, Maurel J, Seitz JF, Buecher B, Mackiewicz R, Ducreux M, Bedenne L. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers: results of FFCD 9203. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4620-4625 [PMID: 17008704 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.7629]
 - 10 Lange MM, Marijnen CA, Maas CP, Putter H, Rutten HJ, Stiggelbout AM, Meershoek-Klein Kranenbarg E, van de Velde CJ. Risk factors for sexual dysfunction after rectal cancer treatment. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1578-1588 [PMID: 19147343 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.12.014]
 - 11 Lange MM, Maas CP, Marijnen CA, Wiggers T, Rutten HJ, Kranenbarg EK, van de Velde CJ. Urinary dysfunction after rectal cancer treatment is mainly caused by surgery. *Br J Surg* 2008; 95: 1020-1028 [PMID: 18563786 DOI: 10.1002/bjs.6126]
 - 12 Baxter NN, Garcia-Aguilar J. Organ preservation for rectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1014-1020 [PMID: 17350952 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.7840]
 - 13 Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J, Vignal J, Grandjean JP, Partensky C, Souquet JC, Adeleine P, Gerard JP. Influence of the interval between preoperative radiation therapy and surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing surgery for rectal cancer: the Lyon R90-01 randomized trial. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2396 [PMID: 10561302]
 - 14 Bosset JF, Collette L, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevic-Jelic L, Daban A, Bardet E, Beny A, Ollier JC. Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 1114-1123 [PMID: 16971718 DOI: 10.1056/NEJMoa060829]
 - 15 Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D. Role of neoadjuvant chemotherapy in rectal cancer: interpretation of the EXPERT study. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4664-4665; author reply 4664-4665 [PMID: 17008708 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.9491]

■同行评价

本论文采用新辅助治疗方法对直肠癌患者治疗, 取得明显效果, 有一定的临床价值, 试验设计合理, 结论可信, 有一定的科学性和可读性。

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江

■背景资料

结肠镜检查是筛查结直肠疾病的首选手段, 其重要性已得到广泛共识, 结肠镜检查的舒适度和盲肠插管率是影响老年患者接受结肠镜检查的重要因素, 自可变硬度结肠镜问世以来, 其在结肠镜检查中相比于传统结肠镜的优劣已有相关报道, 但较少作者在操作技巧层面分析可变硬度结肠镜在老年患者中的应用。

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江, 大港油田总医院消化科 天津市 300280

钱晶瑶, 主治医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究。

作者贡献分布: 此课题由高建新与钱晶瑶设计; 研究过程由钱晶瑶与贾卫江完成; 数据处理由齐艳荣与王文静完成; 论文写作由钱晶瑶完成。

通讯作者: 钱晶瑶, 主治医师, 300280, 天津市大港区大港油田二号院, 大港油田总医院消化科。qianjingyao@sina.com

收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients

Jing-Yao Qian, Jian-Xin Gao, Yan-Rong Qi, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia

Jing-Yao Qian, Jian-Xin Gao, Yan-Rong Qi, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjing 300280, China
Correspondence to: Jing-Yao Qian, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, No. 2 Courtyard, Dagang District, Tianjing 300280, China. qianjingyao@sina.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To explore the application value of variable stiffness colonoscope (VSC) in colonoscopy in elderly patients.

METHODS: From July 2012 to March 2013, 732 elderly patients (60-74 years) suspected to have colorectal cancer underwent colonoscopy at our hospital. They were randomly divided into two groups to receive colonoscopy using either VSC or standard adult colonoscope (SAC). Cecal intubation rate, cecal intubation time, abdominal pain score, position changes during colonoscopy, and additional use of sedation and/or analgesia were compared between the two groups.

RESULTS: VSC was associated with higher cecal intubation rate (95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$) and fewer position changes or ancillary maneuvers during colonoscopy (12.6% vs 33.3%, $P < 0.01$) compared to SAC. Cecal intubation time was

similar between the two groups (8.2 min \pm 3.5 min vs 9.4 min \pm 3.2 min, $P > 0.05$). Although VAS score was higher in the VSC group than in the SAC group (57.4 vs 44.1), additional use of sedation and/or analgesia showed no significant difference between the two groups (4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Use of VSC significantly improves cecal intubation rate and reduces position changes or ancillary maneuvers during the procedure. Cecal intubation time and additional use of sedation and/or analgesia are similar for the two types of colonoscope.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colonoscopy; Variable stiffness colonoscope; Cecal intubation rate; Cecal intubation time

Qian JY, Gao JX, Qi YR, Wang WJ, Jia WJ. Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3168-3172 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3168.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3168>

摘要

目的: 评价可变硬度结肠镜(variable-stiffness colonoscope, VSC)在老年患者结肠镜筛查中的应用价值。

方法: 2012-07/2013-03在我院接受大肠癌筛查项目(60-74岁年龄组)行结肠镜检查的患者共732例, 随机分为: 可变硬度结肠镜(VSC组)和普通成人结肠镜(standard adult colonoscope, SAC)(SAC组), 分别用OLYMPUS CF-H260和FUJINON 450WM5型结肠镜完成单人结肠镜插入。统计分析两组的达盲率、达盲时间、腹痛VAS评分、变换体位/腹部按压、追加镇静镇痛药物等指标。

结果: VSC组的达盲率较高(95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$); 同时, VSC组也较少需要在检查过程中变换体位和助手协助腹部按压(12.6%

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

vs 33.3%, $P < 0.01$); 达盲时间VSC组和SAC组近似 $8.2 \text{ min} \pm 3.5 \text{ min}$ vs $9.4 \text{ min} \pm 3.2 \text{ min}$, $P > 0.05$; VSC组腹痛评分较SAC组高(57.4 vs 44.1), 但需要镇静镇痛几率类似(4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).

结论: 使用VSC可提高达盲率, 并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助, 两组达盲时间相近, VSC腹痛等不适较SAC多见, 但程度较轻, 并不增加需要镇静镇痛的几率.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠镜; 可变硬度结肠镜; 达盲率; 达盲时间

核心提示: 本研究发现使用可变硬度结肠镜可提高盲肠插管率, 并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助, 两组盲肠插管时间相近, 可变硬度结肠镜检查引起的腹痛等不适较传统单人结肠镜检查多见, 但程度较轻, 并不增加需要镇静镇痛的几率.

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江. 可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3168-3172 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3168.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3168>

0 引言

结肠镜检查已被公认为是诊断结直肠疾病(如结直肠癌、息肉、炎性肠病等疾病)最常用最准确的工具. 传统结肠镜检查已经普及, 但是, 在结肠镜插入过程中, 传统结肠镜镜身易成角或成袢, 会给患者带来痛苦和不适, 甚至导致达盲失败, 由此导致的达盲失败率为2%-10%^[1,2]. 而结肠镜检查达盲率又与息肉检出率有密不可分的关系^[3]. 接受结肠镜检查的老年人, 多伴有基础疾病或既往有腹部手术史, 具有耐受性差、不便麻醉镇痛等特点. 这就对操作舒适度、尽量缩短操作时间提出要求. 可变硬度结肠镜(variable-stiffness colonoscope, VSC)由于有较细的镜身直径和更好的灵活性, 从理论上讲, VSC比普通成人结肠镜(standard adult colonoscope, SAC)有插入优势^[4-6]. 近年来, 有几个试验对比了VSC和SAC. 但是, 在临床工作中, VSC是否确实比SAC更有优势, 其结果仍未肯定^[7-9]. 我们在老年患者采用VSC取得良好的效果, 经验如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2012-07/2013-03在我院接受大肠癌筛

查项目(60-74岁年龄组)行单人结肠镜操作的患者共732例为研究对象. 男419例, 女313例, 中位年龄65.7岁, 纳入标准: 符合大肠癌筛查问卷高危人群及便潜血初筛为阳性的患者. 排除标准: 存在结肠镜检查禁忌症者. 禁忌症包括: 肛管直肠部位狭窄, 结肠镜无法插入; 有腹膜刺激症状的患者, 如怀疑肠穿孔、腹膜炎等; 肛管直肠急性期感染或有疼痛性病灶, 如肛裂、肛周脓肿等; 体质衰弱、严重心脑血管疾病者; 肠痿或广泛腹腔粘连者; 精神病患者及不能配合检查者.

1.2 方法

1.2.1 患者随机分组: 内镜中心安排2个检查室分别进行VSC组和SAC组的筛检工作. 内镜中心护士按照社区筛检信息表的顺序预约结肠镜检查, 在每个筛检日预约20例患者, 最后1个筛检日为12例患者. 检查当日护士准备好与患者人数相当的双色号牌放置入纸箱内, 患者自行拿取号牌, 根据号牌颜色进入不同检查室. 由此方式所有患者随机分为VSC组和SAC组(表1).

1.2.2 医生随机: 进行结肠镜操作的2名医师经验是从事结肠镜操作时间超过5年、操作例数超过2000例. 为避免结肠镜检查医生水平对研究的影响, 每日筛查工作进行前, 医生从内镜护士处领取双色随机号牌, 根据号牌颜色进入不同检查室.

1.2.3 结肠镜类型: VSC组: 使用OLYMPUS CF-H260AI型结肠镜(先端直径13.2 mm, 镜身直径12.9 mm, 钳道3.65 mm, 镜身有效长度1330 mm)或OLYMPUS CF-H260AL型结肠镜(先端直径13.2 mm, 镜身直径12.9 mm, 钳道3.65 mm, 镜身有效长度1655 mm). 两者除镜身有效长度不同外, 其他物理特性一致, 在结肠镜操作部有调节硬度的调节旋钮(0-3档). SAC组: 使用FUJINON EC-450WM5型结肠镜(镜身直径12.8 mm, 钳道3.8 mm, 镜身长度1350 mm). 无硬度调节旋钮(表2).

1.2.4 单人结肠镜插入方法: SAC组: 使用FUJINON EC-450WM5型结肠镜, 患者取左侧卧位, 术者采用轴保持短缩法进镜, 对于已采用回转穿行、Jiggling手技、适时解袢等手法, 在常规左侧卧位仍不能完成插镜操作者, 及时变换患者体位或助手按压腹部的辅助进镜方式, 以便插入至回盲部, 对于进镜过程中出现腹痛、腹胀等不适, 患者不能耐受继续进镜者, 给予镇痛镇静药物后继续进行结肠镜插入.

■ 研发前沿

本文重点研究可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值: 针对老年人肠道特点, 可变硬度结肠镜是否可以发挥其硬度可变的物理特性, 在老年患者结肠镜检查中是否有保证舒适度、提高盲肠插管率的优势.

■相关报道

自2001年以来,国外已有可变硬度结肠镜的应用报道,重点体现在对比传统结肠镜的优缺点,多数报道认为可变硬度结肠镜有利于插入,Jeffrey还报道了使用导丝来增加结肠镜硬度可达到方便插入的目的,但也有可变硬度结肠镜导致肠穿孔的病例报道,因此Saunders等认为“too stiff or not too stiff”是可变硬度结肠镜操作过程中必须要注意的关键点。

表 1 VSC组和SAC组患者基本情况 ($n = 366$)

分组	性别(男/女)	中位年龄(岁)	合并高血压(%)	合并心脑血管疾病(%)	既往腹部手术史(%)
VSC	207/159	66.5	61.7(226/366)	51.9(190/366)	16.9(62/366)
SAC	212/154	64.2	63.9(234/366)	47.8(175/366)	15.6(57/366)
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

表 2 VSC组和SAC组结肠镜物理特性

分组	内镜型号	可变硬度	镜身有效长度(mm)	镜身直径(mm)	先端直径(mm)	钳道直径(mm)
VSC	OLYMPUS CF-H260AI/AL	是	1330/1655	12.9	13.2	3.65
SAC	FUJINON EC-450WM5	否	1350	12.8	13.1	3.80

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

表 3 单人结肠镜操作VSC组和SAC组操作数据比较 ($n = 366$)

分组	达盲率(%)	达盲时间(min)	辅助措施(%)	腹痛VAS评分	需要追加镇静镇痛(%)
VSC	95.9(356/366)	6.2 ± 3.5	12.6(46/366)	57.4	4.1(15/366)
SAC	90.7(332/366)	9.4 ± 3.2	33.3(122/366)	44.1	3.8(14/366)
<i>P</i> 值	<0.05	>0.05	<0.01	<0.05	>0.05

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

VSC组: 使用Olympus CF-H260AI/L型结肠镜,除采用上述单人结肠镜手法外,在进镜过程中,根据进镜位置、肠腔走行特点、术者右手感知的镜身自由度等情况,调节操作部0-3的可变硬度环,以方便进镜,通常在开始插入时直至成袢或达到乙状结肠前,右手感知的镜身自由度大,且插入阻力小,此时使用最软硬度(硬度环置于0),当镜身弯曲部深入插至乙状结肠时,常常遇到成袢情况,此时插镜阻力感加强,先解袢,拉直镜身,增加硬度到较硬位置,可先尝试应用硬度2,如果前进失败则加大硬度至3.如果再次成袢,则回到较软硬度,重复以上步骤.当镜身弯曲部越过结肠脾曲,完成横结肠插入时,如调解硬度最大镜身仍不能前进,则配合体位变动(由左侧卧位改为仰卧位或右侧卧位)或助手辅助腹部按压.在达盲后的退镜过程中,改用0档,使用最软镜身硬度。

1.2.5 操作进程监测及指标: 在结肠镜操作过程中,密切观察询问患者情况,如出现腹胀痛不适,难以耐受检查但镜身阻力感较小时,给予肌肉注射安定或山莨菪碱;如患者腹胀痛且镜身阻

力较大时,则终止结肠镜检查,转行钡灌肠或CT仿真内窥镜检查.术程中记录达盲时间、达盲率、过程中变换体位、需要追加镇静镇痛等指标。

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学处理,年龄数据应用秩和检验,正态分布的计量资料比较行 t 检验,计数资料两样本率的比较行 χ^2 检验, $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)为差异有统计学意义。

2 结果

VSC组的达盲率较高(95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$);同时,VSC组也较少需要在检查过程中变换体位和助手协助(12.6% vs 33.3%, $P < 0.01$);达盲时间VSC组和SAC组近似(8.2 min ± 3.5 min vs 9.4 min ± 3.2 min, $P > 0.05$);VSC组腹痛评分较SAC组高(57.4 vs 44.1),但需要镇静镇痛率类似(4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).两组中除腹痛、腹胀等不适外,均无并发症发生(表3)。

使用VSC可提高达盲率,并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助,两组达盲时间相近,VSC腹痛等不适较SAC多见,但程度较轻,并

不增加需要镇静镇痛的几率。

3 讨论

对于传统单人结肠镜操作而言, 在乙状结肠和横结肠, 由于肠道游离度较大, 内镜易于成袢, 在镜身较软的情况下尤其明显, 并且, 在内镜插入较深情况下, 右手不易感知前端成袢情况。在成袢情况下进镜, 插镜力度不能传递到头端, 而是分散于镜身各处, 因此导致镜轴偏移, 肠管伸展, 难以完成短缩动作。可变硬度结肠镜的镜身具有4档可变硬度, 操作中可灵活运用硬度变化, 避免上述情况的发生。

VSC在其操作部有0-3档的可变硬度环, 结肠镜操作医师可视情况, 调节镜身插入部硬度。由于VSC有上述的灵活性, VSC比SAC更易于插入^[10,11]。在通过游离度较大的乙状结肠和横结肠时, 硬度较大的镜身更易于将插入力度传达到镜身前端, 如辅以气量的控制、对操作部旋钮的精细调节、右手轻微的左右旋镜调校镜轴角度, 则易于套取肠道, 防止镜身成袢。但较硬镜身进镜或解袢时, 施加于肠壁的力度及对系膜的牵拉力度均较大, 此时患者往往感知到腹痛加剧^[12]。因此我们的经验是, 在通过乙状结肠时, 先选用软镜身(硬度调节环位于0档), 运用回转弯行、jiggling手技等插入技巧, 小心细致地取直肠道, 适时拉镜解袢。当到达乙状结肠近端即接近降乙交界时, 再加大镜身硬度(硬度调节环位于2档或3档), 利用镜身变硬、不易弯折、进镜力度易于传递到先端的优势, 使内镜先端从游离的乙状结肠进入相对固定的降结肠。继续进镜越过结肠脾曲, 到达横结肠中段时, 如感到镜身自由度欠佳, 进镜阻力加大, 则可将镜身恢复变软, 进行拉镜解袢的动作, 消除因深入肠腔较长, 镜身的自然弯曲或直径较大袢曲的存在。然后加硬镜身, 并视情况辅以体位变动、助手按压腹部等措施, 完成横结肠下垂角至结肠肝曲的插镜动作。由结肠肝曲至升结肠的插镜动作相对简单, 一般通过抽吸空气, 适度退镜, 右旋镜身, 调节旋钮, 即可插入升结肠。对于VSC而言, 所遇到的肝曲难以通过的情况, 多半是此前的气量控制不佳, 导致横结肠过分伸展, 或者带袢进镜, 以致于到达肝曲时, 有效镜身已全部插入肠腔, 难以完成右旋解袢的动作。遇到该种情况, 可尝试恢复患者左侧卧位, 将内镜退至横结肠中段, 充分抽吸肠腔气体, 选择软镜身退镜解

袢后, 加大镜身硬度, 再次进镜。由升结肠至回盲部的插入相对容易, 如有困难, 无需改变镜身硬度(即保持硬镜身状态), 辅以变换体位和腹部按压即可完成。

在老年患者中, 其肠道特点为肠壁张力低, 蠕动较慢, 特别是在部分便秘患者, 多存在结肠传输功能障碍, 导致肠壁松弛, 或存在冗长的乙状结肠和横结肠, 使用SAC, 镜身易于成袢, 且即使成袢, 患者也缺乏腹痛等主观感觉。而VSC可克服以上缺点, 易于在不成袢的情况下套取短缩松弛的肠管, 达到顺利完成检查的目的。

值得注意的是, 既往有手术史的老年患者, 因术后肠道粘连, 导致肠道形成急峻且固定的转弯, 通过这些弯角时, 内镜镜身通常处于成角状态, 并难以展现肠腔, 进镜困难, 此时要耐心地进行角度调节, 禁止通过不断给气、变硬镜身、甚至滑镜的动作来进行插镜操作。在这部分患者, 只有通过急峻弯角肠段后方可考虑加硬镜身, 且避免在硬镜身状态进行大角度旋镜解袢动作, 甚至需全程采用软镜身的状态完成结肠镜的插入, 否则可能造成穿孔或系膜撕裂。

在我们的研究中发现: SAC组失败病例, 多由于在镜身有效长度内未能达盲(6例)或出现患者不能耐受的腹胀(4例)。我们判断是由于患者肠道松弛冗长, 既往手术史导致肠道成角等因素, 导致操作时间延长, 操作过程中向肠腔内注入的总气量过多, 导致肠管过分伸展, 从而为后续的插入造成困难, 因此, 在操作中适时见腔吸气, 控制好总气量, 或在操作中使用CO₂代替空气是可取的对策。

对于接受结肠镜检查的患者, 特别是老年患者, 他们更关心的是检查舒适度及诊断符合率。因此, 作为结肠镜医师, 应熟知日常使用的各种结肠镜的物理特性, 进镜过程中, 时刻感知镜身自由度及阻力感, 预判肠腔走行及思考镜身所处状态, 如使用的是VSC, 则根据以上分析, 灵活转换镜身硬度, 在保证患者安全及检查舒适的基础上, 发挥镜身硬度可变的物理优势, 提高达盲率及缩短达盲时间^[13,14]。

总之, 内镜医师应当了解所用结肠镜的物理特性, 顺应镜身物理特性, 提高插镜技巧, 或可在初始插镜失败后, 即刻或择期选用其他特质内镜(如VSC或加长结肠镜)进行插镜尝试, 完成结肠镜操作, 提高达盲率^[15], 实现结肠镜检查筛查高危患者的初衷。

■创新盘点

以往类似文章、报道也多对比研究了可变硬度结肠镜与传统结肠镜在舒适度、盲肠插管率、盲肠插管时间、息肉检出率等方面的影响, 本文的创新之处在于, 详细阐明可变硬度结肠镜的操作技巧及对老年患者实施检查过程中的注意事项, 既可以发挥可变硬度结肠镜的插入优势, 同时不增加穿孔、腹胀等并发症。

■同行评价

本文提供了比较充足的有意义的信息,详细讲述了可变硬度结肠镜的应用技巧,虽然国内已有类似报道,但本文对于可变硬度结肠镜应用的技巧方面阐述非常细致,对临床具有一定指导意义和实用价值。

4 参考文献

- Mitchell RM, McCallion K, Gardiner KR, Watson RG, Collins JS. Successful colonoscopy; completion rates and reasons for incompleteness. *Ulster Med J* 2002; 71: 34-37 [PMID: 12137162]
- Cardin F, Minicuci N, Andreotti A, Pinetti E, Campigotto F, Donà BM, Martella B, Terranova O. Maximizing the general success of cecal intubation during propofol sedation in a multi-endoscopist academic centre. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 123 [PMID: 20961451 DOI: 10.1186/1471-230X-10-123]
- Banks MR, Haidry R, Butt MA, Whitley L, Stein J, Langmead L, Bloom SL, O'Bichere A, McCartney S, Basherdas K, Rodriguez-Justo M, Lovat LB. High resolution colonoscopy in a bowel cancer screening program improves polyp detection. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4308-4313 [PMID: 22090787 DOI: 10.3748/wjg.v17.i38.4308]
- Sola-Vera J, Uceda F, Brotons A, Sáez J, Girona E, Pérez E, Picó MD, Grau C, Sillero C. Does the use of a variable stiffness colonoscope offer advantages during colonoscopy under deep sedation? Results of a randomized trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 593-597 [PMID: 21593674 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834793d3.]
- Xie Q, Chen B, Liu L, Gan H. Does the variable-stiffness colonoscope makes colonoscopy easier? A meta-analysis of the efficacy of the variable stiffness colonoscope compared with the standard adult colonoscope. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 151 [PMID: 23095461 DOI: 10.1186/1471-230X-12-151]
- 孟尼丽, 张月寒, 焦泽. 硬度可变式结肠镜的临床评价. *中华消化内镜杂志* 2004; (4): 64-66
- Baumann UA. Does retroflexion improve adenoma miss rates on the right side of the colon when using a pediatric variable-stiffness colonoscope during routine colonoscopy? *Endoscopy* 2009; 41: 654 [PMID: 19588295 DOI: 10.1055/s-0029-1214876]
- East JM. Effect of a proprietary intraluminal stiffening wire device on cecal intubation time and rate with used colonoscopes; a randomized, controlled trial. *BMC Res Notes* 2013; 6: 48 [PMID: 23379922 DOI: 10.1186/1756-0500-6-48]
- Kaffes AJ, Mishra A, Ding SL, Hope R, Williams SJ, Gillespie PE, Bourke MJ. A prospective trial of variable stiffness pediatric vs. standard instrument colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 685-689 [PMID: 14595301]
- Prieto-de-Frías C, Muñoz-Navas M, Carretero C, Carrascosa J, Betés MT, De-la-Riva S, Herraiz MT, Sútil JC. Comparative study of a responsive insertion technology (RIT) colonoscope versus a variable-stiffness colonoscope. *Rev Esp Enferm Dig* 2013; 105: 208-214 [PMID: 23859449]
- Saunders BP, East JE. What are the benefits of the variable-stiffness colonoscope? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 8-9 [PMID: 17971796]
- Saunders BP, Williams CB. The variable-stiffness colonoscope: "too stiff or not too stiff, that is the question"--a new twist to the plot. *Endoscopy* 2001; 33: 70-73 [PMID: 11204991]
- Leung FW. Methods of reducing discomfort during colonoscopy. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1462-1467 [PMID: 17999189 DOI: 10.1007/s10620-007-0025-9]
- Chen PJ, Shih YL, Chu HC, Chang WK, Hsieh TY, Chao YC. A prospective trial of variable stiffness colonoscopes with different tip diameters in unsedated patients. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1365-1371 [PMID: 18513270 DOI: 10.1111/j.1572-0241]
- Roberts-Thomson IC, Teo E. Colonoscopy: Art or science? *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 180-184 [PMID: 19215330 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05739.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义

高文颂, 熊晶, 王渝

高文颂, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤中心
湖北省武汉市 430030

熊晶, 王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所
湖北省武汉市 430030

高文颂, 技师, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究.

作者贡献分布: 此课题由高文颂、熊晶及王渝设计; 研究过程由高文颂与王渝操作完成; 数据分析由熊晶完成; 本论文写作由高文颂与王渝完成.

通讯作者: 王渝, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所.

tongjisiyu@163.com

电话: 027-83663624

收稿日期: 2013-07-18 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma

Wen-Song Gao, Jing Xiong, Yu Wang

Wen-Song Gao, Oncology Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Jing Xiong, Yu Wang, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Yu Wang, Attending physician, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. tongjisiyu@163.com

Received: 2013-07-18 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathological significance of expression of tumor suppressor in lung cancer-1 (TSLC1), differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B (DAL-1/4.1B) and membrane protein palmitoylated 3 (MPP3) proteins in colorectal carcinoma.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in 76 colorectal carcinoma tissue samples and 22 normal colorectal mucosal tis-

sue samples. The correlation between expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 and clinicopathologic features of colorectal carcinoma was analyzed.

RESULTS: Positive staining for TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 was observed in the cytoplasm and/or membrane of epithelial cells in normal colorectal mucosal tissue. The positive rates of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 expression were significantly lower in colorectal carcinoma than in normal control tissue (32.89% vs 81.81%, 27.63% vs 63.64%, 26.32% vs 68.18%; all $P < 0.05$). The lower expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma showed a significant correlation with degree of differentiation, depth of infiltration, lymph node metastasis and Dukes' stage (all $P < 0.05$), but not with gender, age or tumor size.

CONCLUSION: Low expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 may be involved in the development and metastasis of colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal carcinoma; Tumor suppressor in lung cancer-1; DAL-1/4.1B; Membrane protein palmitoylated 3; Immunohistochemistry

Gao WS, Xiong J, Wang Y. Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3173-3178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173>

摘要

目的: 研究肺癌肿瘤抑制物1(tumor suppressor in lung cancer-1, TSLC1)、肺腺癌差异表达因子4.1B(differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B, DAL-1/4.1B)和果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3(membrane

■背景资料

TSLC1是一种细胞黏附分子,可参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节,在多种肿瘤中表达缺失或减少. TSLC1与DAL-1和MPP3在细胞附着位点相互作用,共同发挥级联抑癌作用.

■同行评议者

邹小明, 教授, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

■ 研发前沿

TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3基因密不可分,三者共同发挥级联抑癌作用。本研究提示TSLC1蛋白可能与DAL-1和MPP3蛋白结合构成三聚体,共同参与大肠癌的发生发展和转移。

protein palmitoylated 3, MPP3)在大肠癌中的表达及其相互关系,并探讨其临床病理意义。

方法: 采用免疫组织化学EnVision™法检测76例大肠癌和22例正常肠黏膜组织中TSLC1、DAL-1/4.1B、MPP3的表达,并结合其临床病理特征分析。

结果: 正常肠黏膜组织中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3均呈清晰的棕黄色染色定位在上皮细胞质和/或细胞膜。TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白在大肠癌中的阳性表达率均明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达(32.89% vs 81.81%, 27.63% vs 63.64%, 35.53% vs 68.18%; $P<0.05$)。TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白在大肠癌的表达缺失与肿瘤的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$),而与患者的性别、年龄和肿瘤大小无关。

结论: 大肠癌中存在TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3基因的表达缺失, TSLC1与DAL-1/4.1B及MPP3之间的相互作用可能是其发挥肿瘤抑制作用的主要分子机制,三者可能通过TSLC1级联反应共同参与大肠癌的发生、发展和转移。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 大肠癌; TSLC1; DAL-1/4.1B; MPP3; 免疫组织化学

核心提示: 抑癌基因TSLC1与DAL-1和MPP3结合构成三聚体,共同参与调控大肠癌的发生、发展和转移。

高文娟, 熊昆, 王渝. TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3173-3178
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173>

0 引言

大肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,其生长、侵袭及转移过程受到多种因素的影响。其中抑癌基因的突变、缺失和沉默失活是大肠癌发生、发展和转移的重要机制之一。肺癌肿瘤抑制物1(tumor suppressor in lung cancer-1, TSLC1)是在2001年由Kuramochi等^[1]应用功能性互补的方法在人类非小细胞肺癌中发现的一种新的抑癌基因。TSLC1是一种细胞黏附分子,可参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节^[2]。研究发现,在宫颈癌^[3]、喉癌^[4]、乳腺癌^[5]、

食管癌^[6]、胰腺癌^[7]等多种恶性肿瘤中均存在TSLC1基因的表达缺失或减少,该基因在肿瘤的发生、发展中起负性作用,且TSLC1的表达失活与恶性肿瘤的浸润、转移和预后相关。肺腺癌差异表达因子4.1B(differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B, DAL-1/4.1B)是一类细胞膜骨架蛋白,定位于人染色体18p11.3^[8],近年的研究已经证实该基因在多种肿瘤中表达缺失,并且表现出抑制肿瘤转移功能,被认为是一种潜在的抑癌基因^[9]。果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3(membrane protein palmitoylated 3, MPP3)是由585个氨基酸组成一种膜蛋白,属于膜相关鸟苷酸激酶同系物蛋白(MAGuK)家族成员^[10]。研究发现, TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3基因密不可分, DAL-1和MPP3与TSLC1在细胞附着位点相互作用,共同发挥级联抑癌作用^[11]。本研究采用免疫组织化学(EnVision™法)检测大肠癌中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达情况其与临床病理特征之间的关系,并分析三者之间的相关性,以探讨三者在大肠癌发生发展和转移中的作用及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集华中科技大学同济医学院附属同济医院2011-01/2012-12具有完整临床资料大肠癌手术标本73例,并选取22例癌旁8-10 cm以外的正常段肠管处的正常肠黏膜组织作为对照,所有病例术前均未进行任何放疗或化疗。标本经40 g/L甲醛固定、常规石蜡包埋切片和HE染色。其中男48例,女28例。年龄35-72岁,平均年龄59.6岁。组织学分级:高分化腺癌18例,中分化腺癌33例,低分化腺癌25例。浸润深度:浸润突破肌层者54例,未突破肌层者22例。Dukes'分期: A期与B期共45例, C期与D期共31例。有淋巴结转移者31例,无淋巴结转移者45例。兔抗人多克隆抗体TSLC1购自Santa Cruz Biotechnology USA; 羊抗人多克隆抗体DAL-1/4.1B购自Abcam公司; 羊抗人多克隆抗体MPP3购自Abcam公司; 免疫组织化学二步法检测试剂盒购自DAKO公司; DAB显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 采用免疫组织化学染色EnVision™二步法检测TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达: 实验步骤参照EnVision™说明书进行。石蜡切片经烤

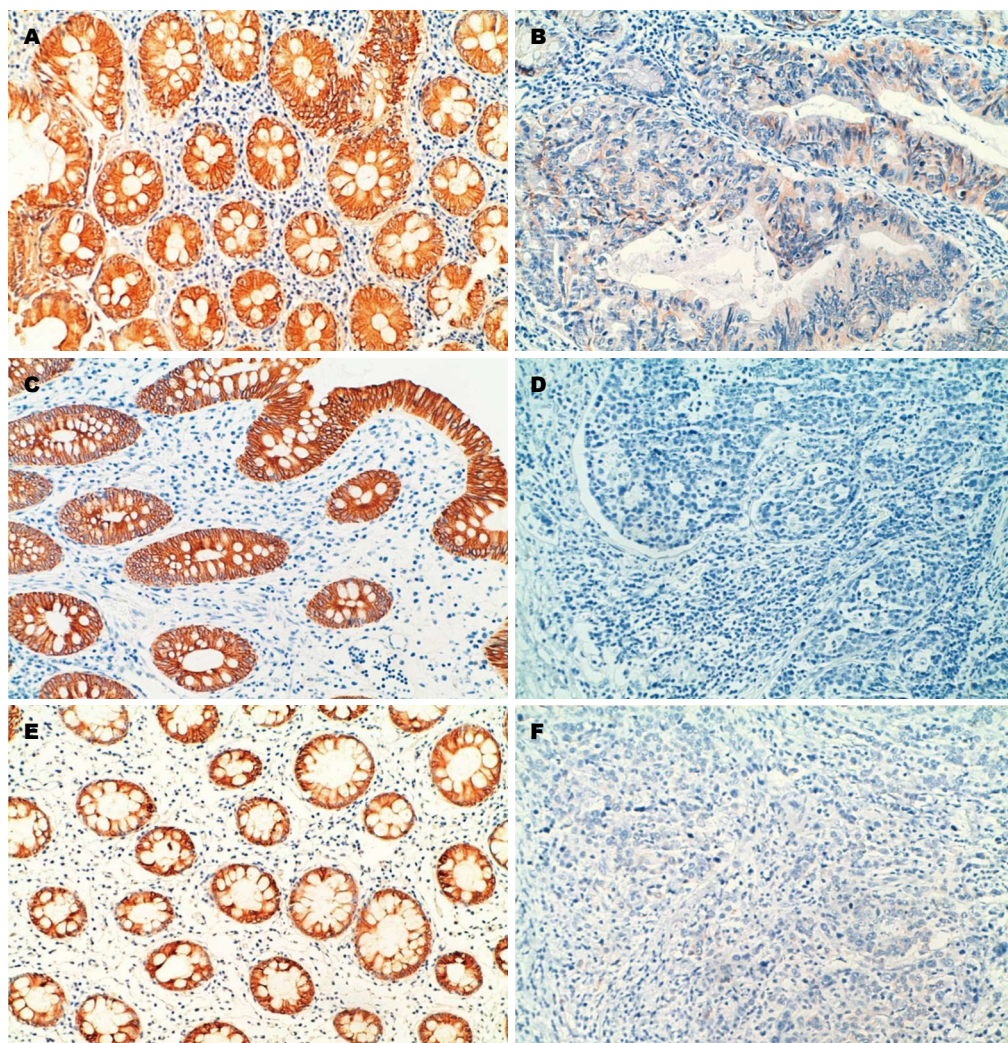


图1 免疫组织化学染色结果(EnVision™法×200). A: TSLC1在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; B: TSLC1在大肠癌(中分化)中呈阴性表达图; C: DAL-1/4.1B在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; D: DAL-1/4.1B在大肠癌(低分化)呈阴性表达; E: MPP3在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; F: MPP3在大肠癌(低分化)呈阴性表达.

■相关报道

TSLC1可通过与DAL-1蛋白及MPP3蛋白相互连接形成复合体,参与细胞骨架的构建和信号传导,维持细胞极性,发挥肿瘤抑制功能. TSLC1、DAL-1和MPP3在大肠癌中表达下调或缺失,且大肠癌中TSLC1蛋白与DAL-1及MPP3蛋白的表达相关,三者可能共同参与维持正常肠道组织结构和肠上皮细胞增殖、黏附功能的稳定,在大肠癌的发生发展中具有协同作用.

片、脱蜡、梯度乙醇水化后,用0.01 mol/L(pH 6.0)枸橼酸缓冲液微波抗原修复15 min, 3%双氧水37℃孵育10 min. 再分别滴加一抗TSLC1(1:150)、DAL-1/4.1B(1:500)和MPP3(1:500), 37℃孵育2 h. 滴加二抗, 37℃孵育30 min. DAB显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 中性树脂封片, 镜检. 用已知阳性表达的组织切片做阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗做阴性对照.

1.2.2 结果判断: TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白阳性表达均定位于细胞质和/或细胞膜, 以细胞质和/或细胞膜出现清晰的棕黄色颗粒判定为阳性细胞. 判断标准: 按照国外文献方法^[12], 在高倍镜下(×400倍)对每张切片随机选取10个视野, 每个高倍视野计数200个细胞, 计算阳性细胞数<30%为阴性, 阳性细胞数≥30%为阳性.

统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件包进行

分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 相关性检验用Spearman相关分析. $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌和正常肠黏膜组织中的表达 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达部位相似, 主要定位于细胞质和/或细胞膜, 呈棕黄色颗粒(图1A, C, E). 在76例大肠癌中, TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3均呈不同程度的缺失表达(图1B, D, F), 其阳性表达率分别为32.89%(25/76)、27.63%(21/76)、26.32%(20/76); 而三者正常肠黏膜组织中的阳性表达率分别为81.81%(18/22)、63.64%(14/22)、68.18%(15/22); 差异有显著性统计学意义($P<0.05$, 表1).

2.2 大肠癌中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表

■创新盘点

本文检测了抑癌基因 *TSLC1*、*DAL-1* 和 *MPP3* 在大肠癌中的表达情况及其与临床病理特征之间的关系, 并分析三者之间的相关性, 探讨三者在大肠癌发生发展和转移中的作用。

表 1 *TSLC1*、*DAL-1* 和 *MPP3* 在正常大肠黏膜及大肠癌中的表达 $n(\%)$

分组	n	<i>TSLC1</i>			<i>DAL-1</i>			<i>MPP3</i>		
		阳性表达率	阴性表达率	P 值	阳性表达率	阴性表达率	P 值	阳性表达率	阴性表达率	P 值
正常肠黏膜组织	22	18(81.8)	4(18.2)	<0.01	14(63.6)	8(36.4)	<0.05	15(68.2)	7(31.8)	<0.01
大肠癌组织	76	25(32.9)	51(67.1)		21(27.6)	55(72.4)		27(35.5)	49(64.5)	

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; *DAL-1*: 肺腺癌差异表达因子4.1B; *MPP3*: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3。

表 2 *TSLC1*、*DAL-1* 和 *MPP3* 与临床病理参数之间的关系 $n(\%)$

临床病理特征	n	<i>TSLC1</i> 表达			<i>DAL-1</i> 表达			<i>MPP3</i> 表达		
		阳性	阴性	P 值	阳性	阴性	P 值	阳性	阴性	P 值
年龄(岁)										
≤55	32	10(31.2)	22(68.8)	>0.05	11(34.4)	21(63.6)	>0.05	13(40.1)	19(59.9)	>0.05
>55	44	15(34.1)	29(65.9)		10(22.7)	34(77.3)		14(31.8)	30(68.2)	
性别										
男	48	14(29.2)	34(70.8)	>0.05	14(29.2)	34(70.8)	>0.05	17(35.4)	31(64.6)	>0.05
女	28	11(39.3)	17(60.7)		7(25.0)	21(75.0)		10(35.7)	18(64.3)	
肿瘤大小(cm)										
≤5	46	16(34.8)	30(65.2)	>0.05	13(28.3)	33(71.7)	>0.05	19(41.3)	27(59.7)	>0.05
>5	30	9(30.0)	21(70.0)		11(36.7)	19(63.3)		8(26.7)	22(73.3)	
分化程度										
高	18	10(55.6)	8(44.4)	<0.05	9(50.0)	9(50.0)	<0.05	11(61.1)	7(38.9)	<0.05
中	33	10(30.3)	23(69.7)		8(24.2)	25(75.8)		10(30.3)	23(69.7)	
低	25	5(20.0)	20(80.0)		4(16.0)	21(84.0)		6(24.0)	19(76.0)	
淋巴结转移										
有	31	6(19.4)	25(80.6)	<0.05	4(12.9)	27(87.1)	<0.05	6(19.4)	25(70.6)	<0.05
无	45	19(42.2)	26(57.8)		17(37.8)	28(62.2)		21(46.7)	24(53.3)	
浸润深度										
未及浆膜	54	12(22.2)	43(77.8)	<0.01	11(20.4)	43(79.6)	<0.05	14(25.9)	40(74.1)	<0.01
侵及浆膜	22	13(59.1)	9(40.9)		10(45.5)	12(54.5)		13(61.9)	9(38.1)	
Duke's分期										
A+B期	45	21(46.7)	24(53.3)	<0.01	17(37.8)	28(62.2)	<0.05	21(46.7)	24(53.4)	<0.05
C+D期	31	4(12.9)	27(87.1)		4(12.9)	27(87.1)		6(19.4)	25(80.6)	

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; *DAL-1*: 肺腺癌差异表达因子4.1B; *MPP3*: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3。

达与临床病理因素之间的关系 *TSLC1*、*DAL-1*/4.1B和*MPP3*在大肠癌中的表达与肿瘤的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$), 而与患者的性别、年龄和肿瘤大小无关(表2)。 *TSLC1*、*DAL-1*/4.1B和*MPP3*在Dukes'分期C+D期、低分化腺癌、有浆膜浸润及淋巴结转移者中阳性表达率明显低于Duke's分期A+B期、高-中分化腺癌、无浆膜浸润及无淋巴结转移者, 差异有显著性统计学意义。

2.3 *TSLC1*、*DAL-1*/4.1B和*MPP3*在大肠癌中表达的相关性 *TSLC1*与*DAL-1*/4.1B、*MPP3*

在大肠癌中的表达具有一定的相关性。在25例*TSLC1*阳性表达大肠癌, 12例*DAL-1*/4.1B呈阳性表达, 18例*MPP3*呈阳性表达; 而在51例*TSLC1*表达减少或缺失的病例中, 9例*DAL-1*/4.1B呈阳性表达, 8例*MPP3*呈阳性表达; *TSLC1*与*DAL-1*/4.1B、*MPP3*的表达之间存在显著的正相关性($r = 0.319, r = 0.534; P<0.05$)(表3)。

3 讨论

*TSLC1*是2001年Kuramochi等^[1]在人非小细胞肺癌中通过功能性互补方法发现的一种新的抑癌

表 3 大肠癌组织中TSLC1与DAL-1及MPP3表达之间的关系 $n(\%)$

TSLC1	n	DAL-1				MPP3			
		阳性	阴性	r 值	P 值	阳性	阴性	r 值	P 值
阳性(%)	25	12(48.0)	13(52.0)	0.319	<0.01	18(72.0)	7(28.0)	0.534	<0.01
阴性(%)	51	9(17.6)	42(82.4)			9(17.6)	42(72.6)		

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; DAL-1: 肺腺癌差异表达因子4.1B; MPP3: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3.

■应用要点

本文提示TSLC1与DAL-1及MPP3在调控大肠癌的发生发展和转移中共同发挥肿瘤抑制功能作用.

基因, 定位于人染色体11q23.2, 全长约300 kb, 包含12个外显子, 属于细胞黏附分子中免疫球蛋白超家族成员. TSLC1作为一种细胞与细胞之间相互作用的膜蛋白, 可维持上皮细胞之间的紧密连接, 主要参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节, 并在肿瘤的发生发展中起负性作用^[2]. 研究发现, 在宫颈癌^[3]、喉癌^[4]、鼻咽癌^[13]、乳腺癌^[5]、食管癌^[6]、胃癌^[14]、胰腺癌^[7]、前列腺癌^[15]等多种恶性肿瘤中均存在TSLC1的表达缺失或减少, 且TSLC1的失活在肿瘤晚期发生更频繁, 启动子甲基化和杂合性缺失是其主要失活机制^[2]. 本研究显示, TSLC1在大肠癌中的表达明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达. 随着大肠癌分化程度的降低、浸润深度的增加、Dukes'分期的进展以及淋巴结转移的发生, TSLC1的阳性表达率明显降低, 呈缺失表达状态. 因此我们推测作为一种抑癌基因, TSLC1的表达失活不仅在大肠癌的发生发展中发挥了重要作用, 而且与大肠癌的侵袭、转移和预后相关.

DAL-1/4.1B属于4.1蛋白家族, 定位于人染色体18p11.3, 是一种将TSLC1和肌动蛋白细胞骨架相连接的锚连蛋白^[8]. DAL-1/4.1B具有维持细胞膜稳定的作用, 与细胞内信号转导和细胞间相互作用密切相关. 该基因已经证实多种肿瘤中表达缺失, 并且具有抑制肿瘤转移功能, 被认为是一种潜在的抑癌基因^[9]. MPP3是由585个氨基酸组成一种膜蛋白, 定位于人染色体17q21, 与CASK、Pals2及syntenin等均属于膜相关鸟苷酸激酶同系物蛋白(MAGUK)家族成员, 与果蝇肿瘤抑制基因DLG(discs large)高度同源^[10]. MPP3在细胞中起着分子支架的作用, 可参与保持细胞极性和形态, 并通过其多个作用域参与信号传导^[10]. DAL-1和MPP3目前认为与TSLC1结合的蛋白, DAL-1和MPP3与TSLC1在细胞附着位点相互作用, 共同参与维持相邻细胞间黏附, 一旦其中的一种蛋白表达缺失, 就

会引起TSLC1级联蛋白的功能丧失, 破坏细胞间黏附而诱发肿瘤转移^[5]. 在本研究中, 免疫组织化学结果显示DAL-1和MPP3在大肠癌中的表达与TSLC1具有相似性, DAL-1和MPP3在大肠癌中的表达明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达; 且二者的表达与大肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$), 而与患者的性别、年龄以及肿瘤大小无关. 上述研究结果提示TSLC1、DAL-1和MPP3的低表达与大肠癌的侵袭和发展密切相关, TSLC1与DAL-1及MPP3间的相互作用可能是其发挥肿瘤抑制能力的主要分子机制.

研究发现, TSLC1与DAL-1及MPP3可能位于同一级联路径, TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3密不可分. TSLC1的胞内区羧基端含2个重要蛋白结合模序: FERM(protein4.1/ezrin/radixin/moesin)结合模序和PDZ(PSD-95/Dlg/ZO-1)结合模序. TSLC1通过这两个结合模序分别与DAL-1蛋白及MPP3蛋白相互连接形成复合体, 参与细胞骨架的构建和维持正常细胞的黏附功能的稳定; 并通过MPP3参与信号传导, 维持细胞极性, 发挥肿瘤抑制功能^[5]. 本研究显示, 大肠癌中TSLC1蛋白与DAL-1及MPP3蛋白的表达呈正相关($P<0.05$), 三者可能共同参与维持正常肠道组织结构和肠上皮细胞增殖、黏附功能的稳定, 在大肠癌的发生发展中具有协同作用.

总之, TSLC1、DAL-1和MPP3在大肠癌中表达下调或缺失, 三者的表达失活均与大肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关. 大肠癌中TSLC1的表达与DAL-1及MPP3的表达之间具有一定的正相关性. TSLC1蛋白可能与DAL-1和MPP3蛋白结合构成三聚体, 共同参与大肠癌的发生、发展和转移.

4 参考文献

- 1 Kuramochi M, Fukuhara H, Nobukuni T, Kanbe

■同行评价

抑癌基因*TSLC1*、*DAL-1*和*MPP3*在大肠癌中的表达, 有重要临床意义。

- 2 Masuda M, Kikuchi S, Maruyama T, Sakurai-Yageta M, Williams YN, Ghosh HP, Murakami Y. Tumor suppressor in lung cancer (TSLC)1 suppresses epithelial cell scattering and tubulogenesis. *J Biol Chem* 2005; 280: 42164-42171 [PMID: 16223734 DOI: 10.1074/jbc.M507136200]
- 3 Steenbergen RD, Kramer D, Braakhuis BJ, Stern PL, Verheijen RH, Meijer CJ, Snijders PJ. TSLC1 gene silencing in cervical cancer cell lines and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 294-305 [PMID: 14970278 DOI: 10.1093/jnci/djh031]
- 4 Lu B, Di W, Wang H, Ma H, Li J, Zhang Q. Tumor suppressor TSLC1 is implicated in cell proliferation, invasion and apoptosis in laryngeal squamous cell carcinoma by regulating Akt signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 2007-2017 [PMID: 23136087 DOI: 10.1007/s13277-012-0460-x]
- 5 Heller G, Geradts J, Ziegler B, Newsham I, Filipits M, Markis-Ritzinger EM, Kandioler D, Berger W, Stiglbauer W, Depisch D, Pirker R, Zielinski CC, Zöchbauer-Müller S. Downregulation of TSLC1 and DAL-1 expression occurs frequently in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 103: 283-291 [PMID: 17260099 DOI: 10.1007/s10549-006-9377-7]
- 6 Ito T, Shimada Y, Hashimoto Y, Kaganai J, Kan T, Watanabe G, Murakami Y, Imamura M. Involvement of TSLC1 in progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 6320-6326 [PMID: 14559819]
- 7 Mao X, Seidlitz E, Truant R, Hitt M, Ghosh HP. Re-expression of TSLC1 in a non-small-cell lung cancer cell line induces apoptosis and inhibits tumor growth. *Oncogene* 2004; 23: 5632-5642 [PMID: 15184878 DOI: 10.1038/sj.onc.1207756]
- 8 Takakuwa Y. Protein 4.1, a multifunctional protein of the erythrocyte membrane skeleton: structure and functions in erythrocytes and nonerythroid cells. *Int J Hematol* 2000; 72: 298-309 [PMID: 11185985]
- 9 Kikuchi S, Yamada D, Fukami T, Masuda M, Sakurai-Yageta M, Williams YN, Maruyama T, Asamura H, Matsuno Y, Onizuka M, Murakami Y. Promoter methylation of DAL-1/4.1B predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2954-2961 [PMID: 15837747 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2206]
- 10 Fukuhara H, Masuda M, Yageta M, Fukami T, Kuramochi M, Maruyama T, Kitamura T, Murakami Y. Association of a lung tumor suppressor TSLC1 with MPP3, a human homologue of Drosophila tumor suppressor Dlg. *Oncogene* 2003; 22: 6160-6165 [PMID: 13679854 DOI: 10.1038/sj.onc.1206744]
- 11 Yageta M, Kuramochi M, Masuda M, Fukami T, Fukuhara H, Maruyama T, Shibuya M, Murakami Y. Direct association of TSLC1 and DAL-1, two distinct tumor suppressor proteins in lung cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 5129-5133 [PMID: 12234973]
- 12 Goto A, Niki T, Chi-Pin L, Matsubara D, Murakami Y, Funata N, Fukayama M. Loss of TSLC1 expression in lung adenocarcinoma: relationships with histological subtypes, sex and prognostic significance. *Cancer Sci* 2005; 96: 480-486 [PMID: 16108829 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00075.x]
- 13 Lung HL, Cheung AK, Xie D, Cheng Y, Kwong FM, Murakami Y, Guan XY, Sham JS, Chua D, Popov AI, Zabarovskiy ER, Tsao SW, Stanbridge EJ, Lung ML. TSLC1 is a tumor suppressor gene associated with metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 9385-9392 [PMID: 17018592 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0590]
- 14 Tamura G. Promoter methylation status of tumor suppressor and tumor-related genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. *Histol Histopathol* 2004; 19: 221-228 [PMID: 14702190]
- 15 Williams YN, Masuda M, Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Shibuya M, Murakami Y. Cell adhesion and prostate tumor-suppressor activity of TSL2/IGSF4C, an immunoglobulin superfamily molecule homologous to TSLC1/IGSF4. *Oncogene* 2006; 25: 1446-1453 [PMID: 16261159 DOI: 10.1038/sj.onc.1209192]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



肝血色病并肝癌1例

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省肝病中心 云南省昆明市 650101
左丽丽, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由左丽丽完成; 胥莹、杨婧、吴华美及杨晋辉审核。

通讯作者: 杨晋辉, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路112号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科, 云南省肝病中心。zll_2011321@163.com

电话: 0871-65351281-2288

收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report

Li-Li Zuo, Ying Xu, Jing Yang, Hua-Mei Wu, Jin-Hui Yang

Li-Li Zuo, Ying Xu, Jing-Yang, Hua-Mei Wu, Jin-Hui Yang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jin-Hui Yang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 112 Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. zll_2011321@163.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

A 75-year-old male patient was admitted to hospital due to poor appetite, fatigue and recurrent fever for one month. Physical examination revealed that he had hepatomegaly and elevated serum iron and ferritin levels. He was diagnosed with hemochromatosis by liver biopsy and hepatic carcinoma by hepatic angiography. Hemochromatosis is a rare condition that has no specific clinical manifestations, is difficult to diagnose at the early stage, and has a poor prognosis. Clinicians should raise awareness of the disease in order to improve the quality of diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hemochromatosis; Hepatomegaly;

Hepatic cirrhosis; Hepatic carcinoma

Zuo LL, Xu Y, Yang J, Wu HM, Yang JH. Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3179-3182 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3179>

摘要

患者,男,75岁,因纳差、乏力、反复发热1 mo入院,入院检查示肝肿大、血清铁升高及铁蛋白升高,经肝穿活检确诊为血色病及肝动脉造影确诊为肝癌。由于本病罕见,临床表现无特异性,早期诊断困难,晚期预后差。因此临床医师应提高对本病的认识,以提高诊疗质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血色病; 肝肿大; 肝硬化; 肝癌

核心提示: 本文报道了1例肝血色病合并肝癌的病例,同时复习了国内外相关文献,总结了此少见代谢性疾病的病因、临床资料、临床表现、诊断以及治疗方法,以期在今后的临床工作中提高对本病的认识,力求对高危人群及血色病患者做到早发现、早诊断、早治疗。

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉. 肝血色病并肝癌1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3179-3182 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3179>

0 引言

血色病(hemochromatosis, HC)是一种铁代谢障碍性疾病,过量的铁沉积于肝脏、胰腺、心脏及其他实质器官,并对这些器官的结构和功能造成损害的疾病状态。其中肝是最常见的受累部位,当过多的铁沉积于肝脏,即为肝血色病,又称为肝铁过度沉积症。肝硬化和肝癌是本病的主要致死原因。本病罕见,起病隐匿,临床表现缺乏特异性,早期诊断困难,晚期预后差。现将我们遇到的1例血色病并发肝癌病例及相关文献复习报道如下。

■背景资料

原发性血色病(primary haemochromatosis, PHC)又称遗传性血色病(hereditary haemochromatosis, HH),属常染色体隐性遗传性疾病,是由6号染色体短臂上的血色病遗传基因(hemochromatosis gene, *HFE* gene)突变引起肠道铁的过度吸收所致。其基本发病机制为铁质长期过度沉积于肝脏、心脏、胰腺及其他实质组织和器官,并对这些组织器官的结构和功能造成损害的疾病状态。血色病是北欧白人常见的遗传性疾病,其人群中发病率可达1/200,而在我国非常罕见。

■同行评议者

倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科

■相关报道

Elmberg等研究表明血色病时由于铁超载继发肝癌危险性显著提高。

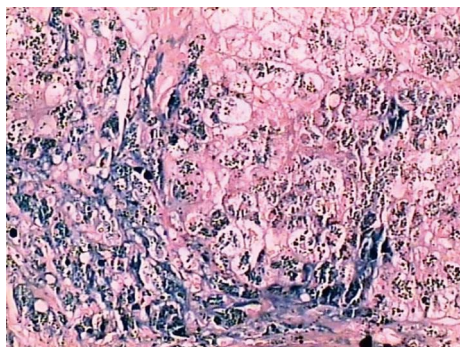


图1 肝组织普鲁士兰染色(×200). 肝细胞内、胆管上皮细胞内和部分纤维间隔内可见大量色素沉积, 普鲁士兰染色(+), 铜染色(-), 未见明显Mallory小体。

1 病例报告

患者,男,75岁,主因纳差、乏力、反复发热1 mo入院。患者1 mo前无明显诱因出现纳差、乏力,反复发热,体温波动在37.3℃-38.0℃之间,伴有腹胀、出汗、咳嗽、咳痰,为黄脓痰,无咯血、痰中带血、盗汗、心悸、胸闷、胸痛、头晕,无恶心、呕吐、呃逆、腹痛等症状,遂至昭通市人民医院就诊,诊断为大叶性肺炎,同时发现肝占位性质待查,行相关治疗(具体不详)后稍好转出院。随后低热1 wk后好转,为明确肝占位性质收住昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科。病程中患者精神、饮食差,大小便正常,体质量下降约3 kg。既往有高血压病史10余年,服用吲达帕胺控制血压,血压控制不详;糖尿病史7年,服用诺和龙、阿卡波糖控制血糖;有痛风、风湿性关节炎病史,有痔疮手术史;否认冠心病史;否认肝炎、结核等传染病史;否认输血史;否认药物过敏史;否认贫血及任何铁剂服用史;预防接种史不详。有50年吸烟史,已戒5年,偶饮酒,无大量饮酒史。否认家族遗传性疾病,父母非近亲结婚。

查体:体温36.3℃,呼吸18次/min,脉搏78次/min,血压116/64 mmHg。神清,慢性病容,全身皮肤呈青灰色,尤以面部明显,巩膜无黄染,全身浅表淋巴结未触及肿大。心肺查体未见明显异常,腹平坦,软,无压痛,肝于剑下5 cm可触及,质硬,缘钝,表面尚光滑,无触痛,脾肋下未触及,移动性浊音阴性,双下肢不肿。

辅助检查:血常规示白细胞(WBC)7.71×10⁹/L,红细胞(RBC)3.48×10¹²/L,血红蛋白(Hb)86 g/L,血小板(PLT)176×10⁹/L;血生化示白蛋白40.7 g/L,丙氨酸氨基转移酶25 U/L,天门冬氨酸氨基转移酶37 U/L,碱性磷酸酶109 U/L,

谷氨酰基转移酶42 U/L,胆碱酯酶3563 U/L,总胆红素14.7 μmol/L,肌酐尿素均正常,甘油三酯2.86 mmol/L,血糖6.94 mmol/L,血钾2.5 mmol/L;血清铁38.3 μmol/L。凝血功能基本正常;大小便常规基本正常;甲、乙、丙、戊型肝炎、艾滋病、梅毒病毒血清标志物均阴性;自免肝相关抗体均为阴性;铜蓝蛋白0.408 g/L;甲胎蛋白(AFP)1.5 IU/mL,癌胚抗原(CEA)11.09 ng/mL,糖类抗原19-9(CA199)89.59 U/mL,糖类抗原50(CA50)33.69 U/mL,铁蛋白(Ft)1000.0 ng/mL;胸片示:(1)双肺间质性改变;(2)主动脉硬化,主动脉型心;(3)双侧胸膜局部增厚、粘连。心电图示:(1)窦性心律;(2)部分导联T波改变;(3)u波出现。彩色B超示:(1)肝脏稍大,肝后叶可疑实性病灶(建议进一步检查);(2)胆囊泥沙样结石,胆囊息肉样病变;(3)双肾囊肿。胸腹部CT示:(1)左肺上叶纤维条索状影,双侧胸膜增厚粘连;(2)肝右叶低密度影,性质?(3)胆囊结石;(4)肝脏密度弥漫性增高,CT值约92 HU,多考虑代谢性病变,建议进一步检查,必要时穿刺活检;(5)肝大,各叶比例失调,考虑肝硬化;(6)脾稍大,边缘及内部点条状钙化,脾脏内类圆形低密度影,考虑囊肿;(7)双肾小囊肿。磁共振示:(1)肝脏信号降低,考虑血色素沉着症;(2)肝右后叶一病变,考虑血管瘤,脾脏小囊肿,多发含铁血黄素沉积;(3)胆囊炎,胆囊内沉积物或小结石;(4)扫描野见双肾小囊肿,约胸11椎体一血管瘤。肝穿病理结果回示:肝小叶结构紊乱,为多数纤维组织分隔、形成肝硬化。肝细胞广泛水肿,气球样变,伴有小泡性脂肪变性,肝细胞内、胆管上皮细胞内和部分纤维间隔内可见大量色素沉积,普鲁士兰染色(+)(图1),铜染色(-),未见明显Mallory小体。纤维隔内少量炎症细胞浸润,CK19和CK17显示胆管明显增生,HbsAg(-)。考虑:结节性肝硬化,血色素沉着症。患者血色病诊断明确,但由于肝穿刺时避开了肝后叶可疑实性病灶部位的活检,肝右后叶占位性质仍不明确,为进一步明确肝占位性质,建议患者行肝动脉造影。经与患者家属仔细沟通后,其表示:愿意行肝动脉造影,若为肝癌,并愿意行肝动脉化疗栓塞术,并签订术前同意书。在造影过程中发现肝右后动脉迂曲、增粗,见杂乱的肿瘤血管,于实质期见一团块状肿瘤染色,远端另一小类圆形肿瘤染色(考虑转移灶)。最后考虑肝右后叶肝癌并肝内转移,予行第1次肝动脉化疗栓塞术。

结合患者病史、症状、体征及辅助检查,同时按照血色病的欧美诊断治疗规范^[1]以及排外继发性血色病,目前诊断为:(1)原发性血色病;(2)原发性肝癌并肝内转移;(3)肝硬化肝功能代偿期;(4)高血压病3级极高危;(5)2型糖尿病。因患者家属拒绝行外科手术治疗,同时考虑患者年龄大合并中度贫血,便未行放血治疗。入院后予以营养心肌、纠正电解质紊乱、控制血压、控制血糖等对症支持治疗后症状好转,予以出院。3 mo后返院复查并行第2次肝动脉化疗栓塞术。6 mo后感腹胀、纳差、乏力,双下肢水肿再次返院复查发现AFP 496 IU/mL, WBC $4.07 \times 10^9/L$, RBC $2.56 \times 10^{12}/L$, Hb 71 g/L, PLT $55 \times 10^9/L$ 。心脏彩超示:(1)左室舒张功能减退;(2)主动脉柔顺性降低;(3)少-中等量心包积液。入院予以行第3次肝动脉化疗栓塞术及抗肿瘤、保肝、利尿等对症支持治疗后症状好转出院。

2 讨论

血色病是一组罕见的因铁代谢紊乱引起体内铁负荷过重所致的疾病,根据病因可分为原发性血色病(primary haemochromatosis, PHC)和继发性血色病(secondary haemochromatosis, SHC),PHC又称遗传性血色病(heritage haemochromatosis, HH),属常染色体隐性遗传性疾病,是由6号染色体短臂上的血色病遗传基因(hemochromatosis gene, *HFE* gene)突变引起肠道铁的过度吸收所致;SHC多继发于血液病(如地中海贫血)、多次大量输血、过量应用铁剂、铁利用障碍所致贫血、慢性肝病等。HC起病隐匿、进展缓慢,男性多见,早期可无症状,随着病情的进展体内过多的铁沉着在脏器组织,引起不同程度的基质细胞破坏、纤维组织增生及脏器功能障碍,临床可表现^[2]为:(1)非特异性全身症状:乏力、疲劳、嗜睡、淡漠、体重减轻;(2)特异性器官损害症状:腹痛(肝肿大、肝硬化)、关节痛(关节炎)、糖尿病(胰腺)、闭经(肝硬化)、性功能减退(脑垂体、肝硬化)、心力衰竭、心律失常、皮肤色素沉着等症状。实验室检查可发现血清铁、铁蛋白、转铁蛋白饱和度明显增高。CT和磁共振间接提示血色病,以往肝活检是诊断HC的金标准,随着基因检测的出现,肝活检的作用由诊断转向对已确诊患者进行预后评价^[2]。Elmberg等^[3]研究表明血色病时由于铁超载继发肝癌的危险性显著提高。所以本例患者出现皮肤色素沉着、肝脾肿大、肝硬化、糖尿病、并伴发原发性肝癌,可认为均直接或间接

地与血色病有关。同时结合肝活检病理检查^[4,5]本例倾向考虑为PHC,虽然暂时未发现明确家族史,建议其家人健康体检时注意行铁代谢等相关检查,当然也可到有条件的医院行基因筛查,力求早发现、早诊断、早治疗^[6]。

HC是北欧白人中常见的遗传性疾病,其人群中发病率可达1/200^[7],而在我国非常罕见,从1957年首次报道至今约200例,而血色病并发肝癌仅有10余例个案报道。由于血色病在临床上并不多见,临床上常由于对其缺乏认识而导致无法早期确诊甚至误诊误治。早期诊断、早期治疗可防止肝硬化等并发症的发生,减少肝癌的发生,而晚期预后不良。结合本例我们有如下体会:(1)临床发现肝肿大、血清铁及铁蛋白升高的患者,要考虑血色病可能。同时对血清铁代谢异常的人群或者血色病患者的一级亲属应注意筛查,以早期发现该病;(2)血色病患者肝功能可正常,如本例患者还合并肝癌,肝功能在前3 mo完全正常,6 mo时仅出现胆碱酯酶稍下降,说明该病起病隐匿,不易引起临床医师的注意。而6 mo内患者出现心包积液,心功能不全,心内科会诊考虑与原发病有关,同时AFP明显升高、Hb和PLT明显降低,说明该病晚期进展快,预后不良;(3)CT和MRI等影像学检查可提示血色病,如本例腹部CT提示肝大、肝脏密度弥漫性增高,CT值约92HU,这与田春梅等^[8]研究报道的血色病的CT值是一致的;MRI示肝实质于T1WI、T2WI信号普遍减低,考虑血色素沉着症。MRI在诊断本病的作用可能大于CT;(4)由于实验室检查缺乏特异性指标,我院尚不能进行HC的基因检测,肝穿刺活检病理检查成为确诊的主要依据。本例患者入住我科后MRI检查后提示血色病,进一步的肝穿刺肝组织病理证实了该诊断。当然在诊断本病时,应注意与其他可引起肝脏肿大的疾病如肝脓肿、脂肪肝、酒精性肝硬化、肝豆状核变性、肝淀粉样变等相鉴别;(5)血色病的治疗常用两种方法:静脉放血和螯合剂治疗。而反复放血排出体内的铁是此病最有效、最经济的治疗方法^[9]。范振平等^[10]对1991/2010国内血色病荟萃分析得出祛铁、放血疗法对于早期患者疗效好。当然晚期患者,有条件者可行肝移植治疗。此病如能在肝硬化发生前进行放血治疗,其健康和寿命可与正常人一样^[11]。因此,对高危人群及血色病患者进行早期诊断和及时处理非常必要。故提供此病例,以期引起重视,以望提高诊疗质量。

■创新盘点

本文中所描述的病例通过肝穿活检确诊为血色病及肝动脉造影确诊为肝癌,同时结合国内外相关文献进行分析、讨论,概括了本病的病因、临床表现、诊断及治疗。

■同行评价

本文报道了1例肝血色病并发肝癌的病例,结合文献讨论了血色病的诊断和治疗,对临床医生提高对血色病的认识有一定作用。

3 参考文献

- 1 李丽,贾继东,王宝恩. 血色病的欧美诊断治疗规范. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 1-3
- 2 Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54: 328-343 [PMID: 21452290 DOI: 10.1002/hep.24330]
- 3 Elmberg M, Hultcrantz R, Ekbom A, Brandt L, Olsson S, Olsson R, Lindgren S, Lööf L, Stål P, Wallerstedt S, Almer S, Sandberg-Gertzén H, Askling J. Cancer risk in patients with hereditary hemochromatosis and in their first-degree relatives. *Gastroenterology* 2003; 125: 1733-1741 [PMID: 14724826]
- 4 卢韶华,谭云山,宿杰·阿克苏,王岫南. 原发性血色病伴肝癌临床病理观察. 诊断病理学杂志 2006; 13: 31-33, i0006
- 5 梁丽,赵景民,周光德,熊璐,李文淑,王海滨,郭晓东,

赵雨来,刘树红,韦立新. 血色素沉积症20例临床病理分析. 解放军医学杂志 2011; 36: 75-79

- 6 孙晓敏,任大宾,徐萍,杨小娟,赖跃兴,何桂钧,万红宇. 原发性肝血色病并急性胆源性胰腺炎1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 521-523
- 7 Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504 [PMID: 11020008]
- 8 田春梅,张林,许昌,杨青霖,王山山,冯艳. 血色病CT表现. 中外医学研究 2011; 9: 51-52
- 9 Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis--a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383-2397 [PMID: 15175440]
- 10 范振平,石红霞,张文瑾,史雪敏,蔡少平,吉英杰,高峰,何卫平. 1991-2010年国内国内血色病荟萃分析. 临床荟萃 2011; 26: 2132-2136
- 11 Niederau C, Fischer R, Pürschel A, Stremmel W, Häussinger D, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1107-1119 [PMID: 8613000]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能写Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *p*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误,外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者,直接采用原有英语词,如中风stroke,发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词,如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者,宜用汉语拼音,如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

高凌 副教授
武汉大学人民医院内分泌科

顾岩 教授
上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

英卫东 教授
安徽省立院肝脏外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李焱 副研究员
中山大学肿瘤防治中心实验研究部

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘改芳 主任医师
河北医科大学第三医院消化内科

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

宁钧宇 副研究员
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

谭晓冬 教授
中国医科大学附属盛京医院

王邦茂 教授
天津医科大学总医院消化内科

王健生 教授
西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张火俊 副教授
长海医院放射科

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

智绪亭 教授
山东大学齐鲁医院普外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

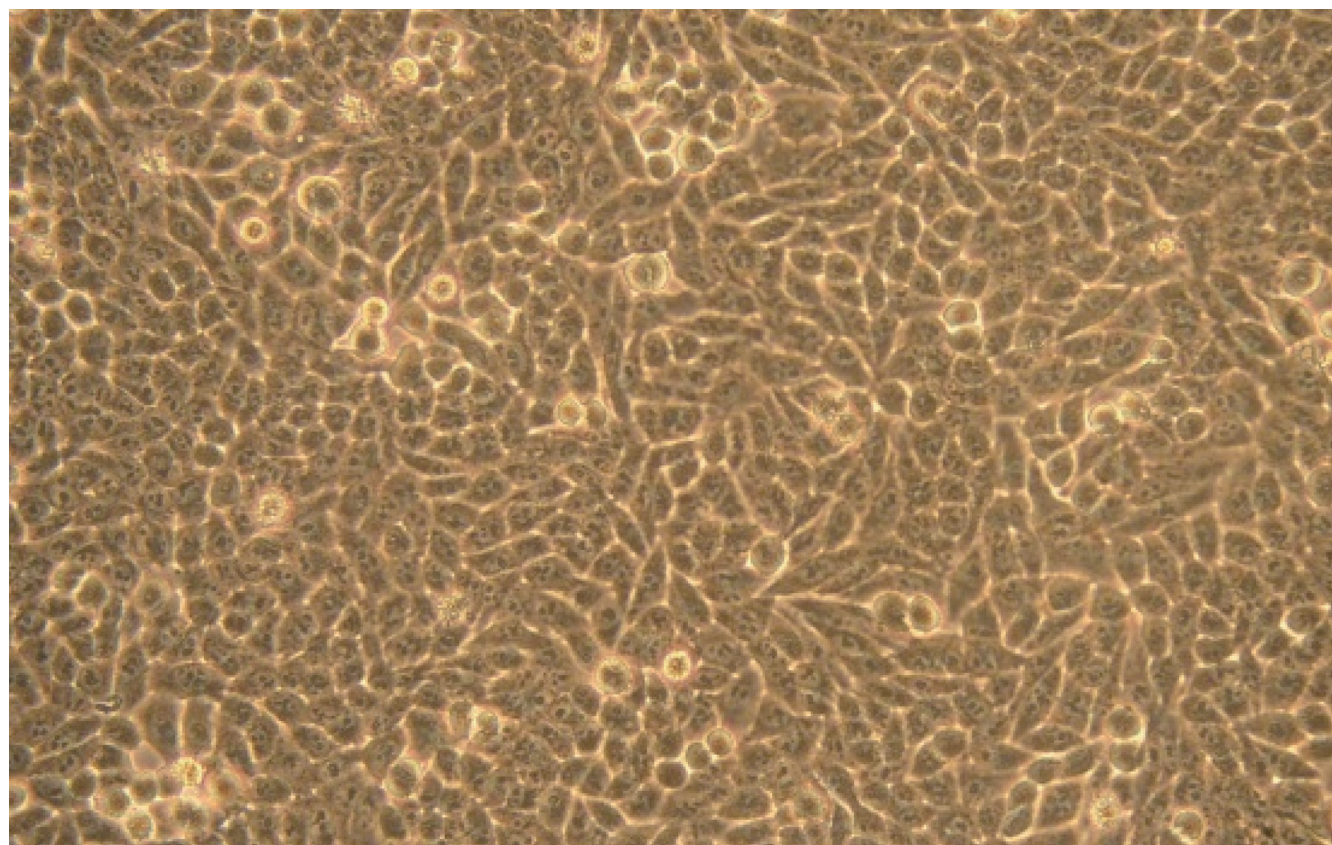


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 10 月 28 日 第 21 卷 第 30 期 (Volume 21 Number 30)



30 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由485位专家组成, 分布在30个省市, 自治区, 特别行政区。其中, 上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年10月28日 第21卷 第30期 (总第434期)

述 评	3183 高危复发因素肝细胞癌肝切除术后的综合治疗 姜卫东, 刘文斌
基础研究	3190 腺病毒携带IL-12治疗肝癌细胞株HepG2的体外实验 崔清昱, 秦万民, 张炳远, 刘世海, 孙传东
文献综述	3198 糖尿病胃轻瘫临床疗效的评价方式 李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 仝小林 3204 上皮间质转化相关的生物标志在胃癌中的研究进展 庄铭镨, 陈丰霖 3211 肠淋巴系统在急性胰腺炎中的研究进展 刘媛琪, 熊玉霞 3217 胰腺癌乏氧与血管生成的研究进展 王思亮, 吴荣 3222 粪菌移植: 公元4世纪至2013年 崔伯塔, 王敏, 季国忠, 范志宁, 张发明 3230 c-Met蛋白在消化系肿瘤中表达的研究进展 侯雷, 赵明明, 孙宝明, 邢会军
研究快报	3236 脂多糖对人肝星状细胞株LX-2活化和凋亡相关蛋白表达的影响 杨亚楠, 万维琴, 朱丹丹, 孙伟, 冯金荣, 段义农 3241 NSAIDs相关性大鼠小肠黏膜PGE ₂ 、COX的表达及药物保护机制 丁瑞峰, 郭元虎, 韩文鹏, 王爱鱼, 田晓娟 3247 黄连素、大黄素、五味子及黄芩苷对幽门螺杆菌多重耐药株的体外抑菌作用 吴明慧, 黄衍强, 黄赞松, 周喜汉, 喻文强, 苏建伟
临床经验	3252 血浆型谷胱甘肽过氧化物酶在食管鳞癌中的表达及临床意义 沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 耿长新 3257 急性食管胃底静脉曲张破裂出血的控制及预后300例 蔡胤浩, 张亚华, 陈万伟, 罗莎莎, 何恩乐, 游明瑶 3261 叶酸联合胃复春治疗萎缩性胃炎癌前病变的疗效 曹艳菊, 屈昌民, 吴继华, 梁淑文, 罗治文, 王晓英, 钟长青, 李连勇 3265 经颈静脉肝内门体分流术使用全覆膜支架 蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石 3270 聚乙二醇干扰素抗病毒治疗CHC与HCV/HBV共感染者的近期疗效 于兰芳, 张泽敏, 袁成江, 陈发明, 彭蕴蕴 3275 TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 李代金, 张文华, 史小英, 王平, 汤敏, 谭璐, 谢永祥, 赵睿婷 3281 Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义 董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健 3286 细胞因子IL-5、IL-6与广西肝癌家族聚集性的相关性 唐自珍, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦 3291 CT引导下经皮穿刺引流与直接开腹手术引流治疗胰腺坏死组织感染的疗效 周祥慧, 陈欧, 罗彬, 古今, 邱雄, 邵泽勇 3296 胃肠激素及细胞因子水平对轮状病毒性腹泻发病机制及病情进展的预测价值 吴伟民, 吴会超, 许晴晴, 聂军 3301 儿童主要肠道病毒感染手足口病的临床比较 姜泓, 张义和 3306 甘肃河西地区人群幽门螺杆菌感染与宿主基因背景的相关性 赵阳, 李波, 张磊, 朱宏文, 成慧娟, 李阳冰, 杨璐西, 李玉民 3314 柳州地区幽门螺杆菌对抗菌药物的耐药性 罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

病例报告	3319 贲门癌合并胃肠道间质瘤3例 陈慧, 詹俊, 刘思齐
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3189 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3197 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3203 《世界华人消化杂志》出版流程 3210 《世界华人消化杂志》栏目设置 3229 《世界华人消化杂志》参考文献要求 3235 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3240 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3246 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 3251 《世界华人消化杂志》正文要求 3256 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3274 《世界华人消化杂志》外文字符标准 3290 WJG成功通过评审被PMC收录 3295 WJG总被引频次排名位于第174名 3300 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3305 《世界华人消化杂志》修回稿须知 3313 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	崔清显, 秦万民, 张炳远, 刘世海, 孙传东. 腺病毒携带IL-12治疗肝癌细胞株HepG2的体外实验. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3190-3197 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3190.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3190
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-10-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wjcd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

October 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 30

EDITORIAL	3183 Comprehensive treatment for hepatocellular carcinoma in patients at a high risk of recurrence after hepatectomy <i>Jia WD, Liu WB</i>
BASIC RESEARCH	3190 <i>In vitro</i> antitumor effect of an adenoviral vector expressing IL-12 in HepG2 cells <i>Cui QY, Qin WM, Zhang BY, Liu SH, Sun CD</i>
REVIEW	3198 Methods for clinical evaluation of diabetic gastroparesis <i>Li JL, Li M, Tian JX, Pang B, Tong XL</i> 3204 Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer <i>Zhuang MK, Chen FL</i> 3211 Role of intestinal lymphatic system in pathogenesis of acute pancreatitis <i>Liu YQ, Xiong YX</i> 3217 Progress in research of hypoxia and angiogenesis in pancreatic cancer <i>Wang SL, Wu R</i> 3222 Fecal microbiota transplantation: from the 4 th century to 2013 <i>Cui BT, Wang M, Ji GZ, Fan ZN, Zhang FM</i> 3230 Expression of c-Met protein in gastrointestinal tumors: Recent research progress <i>Hou L, Zhao MM, Sun BM, Xing HJ</i>
RAPID COMMUNICATION	3236 Effect of lipopolysaccharide on expression of proteins associated with cell activation and apoptosis in human hepatic stellate cell line LX-2 <i>Yang YN, Wan WQ, Zhu DD, Sun W, Feng JR, Duan YN</i> 3241 Expression of PGE ₂ and COX in intestinal injury induced with non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats: Implications for protective effects of drugs <i>Ding RF, Guo YH, Han WP, Wang AY, Tian XJ</i> 3247 <i>In vitro</i> bacteriostatic effect of berberine, emodin, schisandra, and baicalin on multidrug resistant strains of <i>Helicobacter pylori</i> <i>Wu MH, Huang YQ, Huang ZS, Zhou XH, Yu WQ, Su JW</i>
CLINICAL PRACTICE	3252 Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in esophageal squamous cell carcinoma <i>Shen L, He YL, Zhang WW, Geng CX</i> 3257 Management and prognosis of acute esophageal variceal bleeding: Analysis of 300 cases <i>Cai YH, Zhang YH, Chen WW, Luo SS, He EL, You MY</i> 3261 Therapeutic effects of folic acid against precancerous lesions in patients with chronic atrophic gastritis <i>Cao YJ, Qu CM, Wu JH, Liang SW, Luo ZW, Wang XY, Zhong CQ, Li LY</i> 3265 Transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation with expanded polytetrafluoroethylene-covered stent <i>Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S</i> 3270 Clinical effect of PEG-IFN in treatment of CHC and HCV/HBV co-infection <i>Yu LF, Zhang ZM, Yuan CJ, Chen FM, Peng YY</i> 3275 TIPS combined with autologous bone marrow stem cell transplantation for treatment of decompensated liver cirrhosis <i>Huang MT, Cao YL, Feng ZM, Ji DJ, Zhang WH, Shi XY, Wang P, Tang M, Tan H, Xie YX, Zhao RT</i> 3281 Diagnostic significance of Caspase 3 and Bcl-2 expression in colon cancer <i>Dong XT, Huang Y, Li W, Shan WY, Zheng JN, Chen J</i> 3286 Relationship between serum levels of IL-5 and IL-6 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi <i>Tang ZZ, Wu JZ, Wu JL, Wei YH, Zhang L, Ning QY, Hu DF, Wan PQ</i> 3291 Clinical effect of CT-guided percutaneous catheter drainage versus laparotomy in treatment of infective pancreatic necrosis <i>Zhou XH, Chen O, Luo B, Gu J, Qiu X, Shao ZY</i> 3296 Predictive significance of serum levels of gastrointestinal hormones and cytokines for disease progression in patients with rotavirus diarrhea <i>Wu WM, Wu HC, Xu QQ, Nie J</i> 3301 Comparative analysis of clinical features and laboratory findings for hand, foot and mouth disease caused by different enteroviruses <i>Jiang H, Zhang YH</i>

	<p>3306 Association between <i>Helicobacter pylori</i> infection and host genetic background in a population in Hexi, Gansu Province Zhao Y, Li B, Zhang L, Zhu HW, Cheng HJ, Li YB, Yang LX, Li YM</p> <p>3314 Analysis of <i>Helicobacter pylori</i> antibiotic resistance in Liuzhou, China Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY</p>
CASE REPORT	3319 Synchronous cardiac cancer and gastrointestinal stromal tumor in the stomach: Report of three cases Chen H, Zhan J, Liu SQ
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Cui QY, Qin WM, Zhang BY, Liu SH, Sun CD. <i>In vitro</i> antitumor effect of an adenoviral vector expressing IL-12 in HepG2 cells. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(30): 3190-3197 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3190.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3190
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 311006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

高危复发因素肝细胞癌肝切除术后的综合治疗

英卫东, 刘文斌

英卫东, 刘文斌, 安徽医科大学附属医院肝胆外科 肝胆胰外科安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001
英卫东, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事肝癌转移复发的基础与临床研究。

2011年度安徽省科技攻关基金资助项目, No. 11010402163

作者贡献分布: 本文综述由刘文斌完成; 英卫东负责审校。

通讯作者: 英卫东, 教授, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院肝胆外科, 肝胆胰外科安徽省重点实验室。jwd1968@sina.com

电话: 0551-62283740

收稿日期: 2013-07-04 修回日期: 2013-08-01

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-28

Comprehensive treatment for hepatocellular carcinoma in patients at a high risk of recurrence after hepatectomy

Wei-Dong Jia, Wen-Bin Liu

Wei-Dong Jia, Wen-Bin Liu, Department of Hepatic Surgery, Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University; Anhui Provincial Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, Hefei 230001, Anhui Province, China
Supported by: the 2011 Key Science and Technology Project of Anhui Province, No. 11010402163

Correspondence to: Wei-Dong Jia, Professor, Department of Hepatic Surgery, Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University; Anhui Provincial Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. jwd1968@sina.com

Received: 2013-07-04 Revised: 2013-08-01

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-28

Abstract

The incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) is high in China. Hepatectomy is the first choice for some HCC patients at a high risk of recurrence; however, the rate of postoperative recurrence in these patients remains high. Since single postoperative treatment trying to avoid recurrence often does not work effectively, more than one means are needed to reduce the recurrence on the basis of understanding the effectiveness of different therapeutic methods. In this paper, we will discuss the origin and molecular mechanisms of recurrence as well as the related treatments for HCC at a high risk of recurrence, with an aim to explore more effective and reasonable comprehensive treatments to prevent recurrence in HCC patients at a high risk of recurrence after hepatectomy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Transcatheter arterial chemoembolization; Sorafenib; Interferon; Chemotherapy; Vitamin

Jia WD, Liu WB. Comprehensive treatment for hepatocellular carcinoma in patients at a high risk of recurrence after hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3183-3189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3183.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3183>

摘要

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在我国高发, 对部分有高危复发因素的患者肝切除手术仍作为首选的治疗方式, 然而此部分患者术后的复发率较高, 需要采取多种手段降低术后复发率。然而术后单一的复发预防方法有其局限性, 应该在熟悉多种治疗方式疗效的基础上强调术后综合治疗。本文结合肝癌术后复发起源及分子机制, 就有高危复发因素肝癌术后复发预防的相关治疗方式进行阐述, 探索更为合理有效的综合治疗方案对防治有高危复发因素的肝癌患者术后复发具有重要意义。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝细胞性肝癌; 肝动脉化疗栓塞; 索拉非尼; 干扰素; 化疗; 维生素

核心提示: 本文结合肝癌术后复发起源及分子机制, 就有高危复发因素肝癌术后复发预防的相关治疗方式进行阐述, 探索更为合理有效的综合治疗方案对防治有高危复发因素的肝癌患者术后复发具有重要意义。

英卫东, 刘文斌. 高危复发因素肝细胞癌肝切除术后的综合治疗. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3183-3189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3183.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3183>

0 引言

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)简

■背景资料

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上常见的恶性肿瘤, 对部分有高危复发因素的患者仍选择肝切除手术, 然而此类患者术后复发率较高, 需要采取多种手段降低术后复发率, 综合治疗措施可能是其最佳选择。

■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

■ 研发前沿

由于存在高危复发因素, 高危复发因素肝癌切除术后复发率较高。目前此类患者手术后的治疗方式繁多, 然而单一的治疗方式尚存在一定的局限性, 有待于探寻有效的综合治疗措施。

称肝癌, 在我国高发, 年死亡数多达33万例左右, 病死率在各种恶性肿瘤中居第2位^[1]。手术切除是最常用的根治性治疗手段, 即使对部分有高危复发因素的患者也常选择手术作为首选的治疗方式, 然而此部分患者术后的复发率高, 需要采取多种手段降低术后复发率^[2,3]。HCC术后治疗方式繁多, 为提高高危复发因素肝癌患者手术后的生存率, 降低手术后的复发率, 应该在熟悉肝癌术后复发起源、分子机制以及多种治疗方式疗效的基础上强调术后的综合治疗。

1 肝癌术后复发起源及分子机制

目前认为肝癌复发主要有两种途径, 一种是来自原发性肝癌术后肝内残留癌细胞来源的复发型(intrahepatic metastasis, IM), 另一种是来自肝脏多中心起源的新生肿瘤型(multicentric occurrence, MO)。肝脏特殊的富血管结构成为癌细胞侵犯微血管导致肝内微转移, 进而IM型复发性肝癌(IM-RHCC)发生的最重要的病理学基础, 80%以上的复发性肝癌都局限于肝内。原发性肝癌微血管侵犯的发生率为29%-45%, 且瘤体越大, 癌栓形成的概率就越高。微血管侵犯已被公认为是评估肝癌术后复发转移风险和预测手术预后最重要的病理学指标之一; 另一方面, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)-DNA是按随机方式整合到宿主肝细胞基因组中, 肝细胞不典型增生和异型增生结节等癌前病变也具有全肝分布和异时发生的特点, 因而存在多处肝细胞先后发生癌变的可能, 由此成为MO型复发性肝癌(MO-RHCC)发生的病理学基础。从目前对复发性肝癌分子检测结果看, MO-RHCC所占比例为15%-30%^[4-6]。

一般认为, 肿瘤细胞增殖和肿瘤血管生成是HCC复发的主要分子机制。肝部分切除术后, 肝脏再生和伤口愈合过程中会产生一系列生长因子, 如表皮细胞生长因子、转化生长因子- α 、肝细胞生长因子等, 最终导致Ras-RAF-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MEK)-细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal regulated protein kinase, ERK)信号通路的激活, 引起HCC血管生成、细胞增殖、转移, 这是肿瘤细胞增殖的一条关键通路。HCC术后肿瘤微环境发生一系列的变化, 其中缺氧是最重要的变化之一。缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor, HIF-1)是一种随着细胞内氧浓度变化而调节基因表达的转录激活因子, HIF-1 α 是唯一的氧调节亚单位, 决定着HIF-1的活性, 在缺

氧、生长因素等刺激条件下, HIF-1 α 与HIF-1 β 结合, 促进一系列可能促进肿瘤生长的基因和蛋白发生转录, 包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板内皮细胞生长因子和一氧化氮合酶基因等, 最终促进肿瘤血管的生成。此外, HIF-1 α 还与肿瘤的生长繁殖、侵袭和转移、凋亡、耐药等特征密切相关, 下调HIF-1 α 表达水平能有效抑制肿瘤生长^[7-9]。

2 高危复发因素肝癌肝切除术后复发率高

常见的高危复发因素有: 手术切除方式(非解剖型肝切除); 手术切缘(切缘阳性); 血管侵犯(脉管癌栓或胆管癌栓); 淋巴结转移; 肿瘤大小; 肿瘤数目(≥ 3 个); 肿瘤分期; 肿瘤分级; 卫星转移灶; 有无完整包膜; 肝肿瘤破裂、邻近器官侵犯; 甲胎蛋白(alfa-fetoprotein, AFP)水平(术后2 mo AFP未降至正常水平); 术后血管造影(digital subtraction angiography, DSA)残存阳性病灶; 肝硬化程度; HBV/丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染情况; Child-Pugh分级等^[10-12]。

研究表明高危因素肝癌肝切除术后复发率高。如病理切缘阳性病灶1年内复发率达82%^[13], 术后DSA造影有残存阳性病灶1年内复发率达87.2%^[14], 合并脉管癌栓和/或合并胆道癌栓4 mo复发率达78.3%^[15], 病理证实淋巴结转移2年复发率达100%^[16], 肝肿瘤破裂, 临近器官侵犯1年复发率达61%^[17], 瘤数目 ≥ 3 个6 mo复发率达60%^[18], 术后2 mo AFP未降至正常范围4 mo复发率达80%^[19], 非解剖性肝切除1年内复发率达48.4%^[20], 超出米兰标准的大肿瘤肝移植3年复发率达43%^[21]。

3 预防术后复发的相关治疗

3.1 肝动脉化疗栓塞 肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是最重要的局部治疗手段, 在HCC治疗中被广泛使用, 而作为术后辅助治疗其指征及疗效尚存争议, 但比较一致的观点是, TACE辅助治疗必须进行合理的患者选择。Peng等^[22]认为HCC合并门静脉癌栓的患者, 术中摘除门静脉癌栓与术后TACE辅助治疗联合可显著改善1、3、5年无瘤生存率和总生存率。另有研究认为, TACE作为辅助治疗仅对有残余病灶和早期复发风险的患者受益, 而对复发风险较低以及较晚期复发的患者无效, 相反, 此类患者如采取TACE治疗可能弊大于利。

(低复发风险: 指肿瘤直径 ≤ 5 cm, 单个肿瘤, 没有镜下癌栓的患者)^[23]. 此观点与Ren等^[24]的研究报道一致. Meta分析显示TACE作为术后辅助治疗对高风险(多结节, 肿瘤直径 > 5 cm或有血管侵犯)HCC患者的疗效优于I、II期(UICC, 2002)低风险的患者^[25]. Wen等^[26]研究显示对有微血管侵犯的HCC患者, TACE对1、3、5年无瘤生存率和总生存率的改善没有统计学意义. 其认为对有微血管侵犯的HCC患者, TACE可作为一项预防性但不是必须的治疗手段. 不过, 上述研究报道的循证医学级别普遍较低, 研究类别层差不齐, 化疗药物、TACE次数、间隔等均差异较大, 这些因素均可能影响到TACE辅助治疗的疗效.

尽管大多数研究显示术后TACE辅助治疗可改善经过选择的HCC患者的生存情况, 然而也有数据显示TACE仅改善患者的无瘤生存率, 对长期生存并没有显著改善. 对没有高危复发风险/无残癌的患者采取不恰当的TACE治疗很可能因对患者残余肝脏的损害及所引起的肝功能恶化而致生活质量下降, 长期生存受影响. 甚至有研究报道术后TACE治疗可使患者肝外转移的发生率升高, 预后更差^[27].

3.2 索拉非尼 索拉非尼是美国食品和药品管理局和欧洲药品管理局批准用于晚期HCC的首个靶向治疗药物, 其一方面靶向作用于Ras-Raf-MEK-ERK信号传导通路中的Raf激酶而阻断肿瘤细胞增殖; 另一方面靶向作用于血管内皮生长因子受体-2/3(VEGFR-2/3)和血小板衍生生长因子受体 β (platelet derived growth factor β , PDGFR β)酪氨酸激酶, 发挥抗血管生成效应^[28].

有研究比较了索拉非尼对手术前后HCC移植肿瘤生长的抑制作用, 结果显示无论是小鼠模型还是临床HCC患者, 手术切除可以加速术后肿瘤生长, 而索拉非尼可以大大抑制术后肿瘤广泛生长, 仔细比较后发现, 部分肝切除术加强了索拉非尼的抗肿瘤作用, 表明复发肿瘤更容易受到索拉非尼诱导的生长抑制^[7]. 该研究关于索拉非尼对HCC术后复发/转移预防的体内、外动物实验显示, 索拉非尼使小鼠原位肝癌模型切除术后2 wk内减少约40%的肝内复发, 肝外转移的数据与肝内复发结果相似^[7]. 索拉非尼预防HCC术后复发的全球大型临床研究(STORM)目前正在进行中, 预计2014年出结果. 在台湾开展的一项观察索拉非尼对肝癌切除术后早期复发的开放、对照II期临床研究2年随访结果显示, 索拉非尼组的复发率较对照

组显著降低(21% vs 63%), 索拉非尼组的无复发生存率显著长于对照组(66.7% vs 26.4%), 结果证明索拉非尼有降低HCC手术切除患者复发率的趋势^[29]. 根据临床经验, 索拉非尼的适用人群为: 病理切缘阳性病灶; 术后DSA造影有残存阳性病灶; 合并脉管癌栓和/或合并胆道癌栓; 病理证实淋巴结转移; 肝肿瘤破裂, 邻近器官侵犯; 肿瘤数目 ≥ 3 个; 术后2 mo AFP未降至正常范围^[30].

总之, 索拉非尼的体内、外试验以及现有的研究数据表明, 索拉非尼对部分切除术后有复发风险的HCC患者比较敏感, 其不良反应可耐受. 鉴于其在晚期肝癌的突出表现, 索拉非尼的现有数据支持其作为HCC术后辅助治疗的一个选择, STORM研究结果期望对现有结果提供更有利的支持证据.

3.3 干扰素 在我国, 约80%的肝癌患者合并HBV感染. 抗病毒治疗可以在相当程度上抑制HBV复制, 改善肝功能, 减轻肝组织学病变, 对于保护残存的肝细胞意义很大. α 型干扰素(interferon α , IFN- α)具有抗病毒、抗肿瘤及免疫调节等生物学作用. 很多随机临床对照试验表明, 肝癌术后长疗程IFN- α 治疗是减少复发率、提高生存率的有效方法^[31].

JAK-STAT信号传导通路(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription)是抗肿瘤细胞增殖作用的主要通路. JAK-STAT信号转导通路中的关键分子P48-ISGF3突变影响该蛋白功能或降低了合成水平, 影响ISGF3的合成. 故认为可以通过P48的表达选择干扰素的敏感人群^[32,33]. 动物实验结果进一步证实, 干扰素治疗可使P48阳性肝癌的生长完全停止, 而对P48阴性肝癌只能起到延缓生长的作用. 对P48蛋白在肝癌组织中的表达及其与IFN- α 疗效的关系研究表明P48阳性患者的无瘤生存率和总生存率明显好于阴性患者, 提示P48可以作为乙型肝炎后肝癌术后使用干扰素治疗的生物学指标^[34]. 而复旦大学癌症研究院和香港大学医学中心合作研究发现肝癌组织中miR-26表达降低的患者对术后干扰素治疗更为敏感^[34]. 然而来自于意大利米兰的一项研究确得出否定的结果, 尽管亚组分析显示对合并HCV相关肝硬化的晚期复发(新发癌灶)HCC患者干扰素有降低复发趋势, 但干扰素组的无复发生存率并无显著改善^[35].

鉴于已有的研究报道大多患者数量较少, 甚至部分研究结果互相冲突, 目前认为, 对P48阳

■相关报道

Meta分析显示TACE作为术后辅助治疗对高风险肝癌患者的疗效优于I、II期低风险的患者; 肝癌术后抗病毒治疗组肝癌复发率低于未进行抗病毒治疗组.

■创新盘点

高危复发因素肝癌切除术后复发率较高,对此类肝癌切除术后预防复发方法很多,但尚未见对其的综合治疗报道。

性、肿瘤组织miR-26表达降低的患者干扰素可以尝试性治疗。

3.4 化疗 针对化疗预防肝癌术后复发的研究从未间断。从20世纪50年代开始卡莫弗、替加氟等药物陆续被应用到肝癌辅助治疗中,然而大部分研究发现化疗药物不能改善患者生存和延缓复发,甚至有些研究得出相反的结果。一方面由于肝癌对化疗药物不敏感,迄今为止,所有用于肝癌临床试验的化疗药物,几乎没有超过20%的缓解率,特别是全身化疗对肝癌的缓解率较低,过多的化疗可能因为抑制机体的免疫系统,反而促进了肝癌的转移;另一方面辅助化疗对肝脏功能的损害以及肝癌细胞固有的耐药基因的存在等因素决定了肝癌辅助化疗效果欠佳。所以肝癌术后化疗不适合作为辅助治疗^[36,37]。

3.5 维生素K₂ 维生素K₂是无明显不良反应作用的脂溶性维生素,体外能抑制人肝癌高转移细胞MHCC97-H的生长、黏附、侵袭、凋亡,在裸鼠肝癌模型中能减少肺转移并延长生存期。有临床研究比较了维生素K₂ 45、90 mg/d与安慰剂对HCC术后预防复发的疗效,结果显示45 mg/d与安慰剂比较有降低复发的趋势,而维生素K₂ 90 mg/d与安慰剂比较则无差别,认为对于有肝硬化或晚期肝纤维化的HCC患者使用45 mg/d的维生素K₂治疗比较合适^[38]。已有多个研究采用了维生素K₂ 45 mg/d持续口服的方法用于预防HCC术后复发^[39-41]。异常凝血酶原(des-carboxy-prothrombin, DCP)是一种因维生素K缺乏或被拮抗时产生的物质,一般认为DCP阳性的患者复发率较高,然而,多因素风险模型分析发现即使对低水平DCP的患者,维生素K₂仍可降低其肿瘤复发^[40]。

维生素K₂虽没有明显的不良反应,然而目前的研究显示维生素K₂只能提高患者1年生存率,却不能降低1年复发率,短期治疗似乎比较安全。由于缺乏长期随访数据,维生素K₂对术后肝癌的长期疗效目前仍未知^[31]。

3.6 抗病毒治疗 在我国,80%以上的患者为HBV/HCV相关性HCC,需在治疗HCC的同时进行抗病毒治疗。术后患者通过抗病毒治疗将HBV/HCV的复制抑制至最低水平,旨在减少或延缓HCC的复发,改善生活质量,延长生存期;同时抗病毒治疗可改善肝功能,减少终末期肝病事件的发生,为HCC综合治疗创造条件。多个研究^[42,43]显示HCC术后使用拉米夫定虽不能明显降低复发率,但累积存活率显著延长,认为与

使用抗病毒药物有效控制体内病毒复制、稳定肝功能有关。Meta分析^[44]结果证实HCC术后抗病毒治疗组HCC复发率(55%)低于未进行抗病毒治疗组(58%);对总体死亡率而言,抗病毒治疗组(38%)明显低于对照组(42%),认为抗病毒系统性治疗对于HBV相关性HCC患者而言具有确定的益处,可有效控制HCC合并HBV感染术后体内病毒复制,保持肝功能长期稳定,降低复发率、死亡率,提高总体生存率。

4 预防术后复发的综合治疗

肝癌作为一种全身疾病,单一治疗往往难以解决所有问题,需要多种方法联合治疗才能达到最佳疗效。在众多的治疗方法中,局部治疗与全身治疗结合如TACE与索拉非尼的联合使用比较普遍。TACE采用化疗药物与碘油的乳化剂,结合栓塞剂阻塞新生血管从而诱导肿瘤坏死,治疗过程中不可避免地导致肝肿瘤细胞和周围肝组织缺氧,而缺氧可以上调VEGF并刺激肝肿瘤细胞生长。多项研究显示:VEGF过表达及其信号通路的激活在肿瘤进展和血管生成中发挥重要作用。因此,阻断VEGF介导的TACE术后血管新生很可能是优化TACE疗效的有效手段。索拉非尼既可阻断由RAF/MEK/ERK介导的细胞信号传导通路,还可通过作用于VEGFR和PDGFR,从而抑制TACE后残存肿瘤生长及肿瘤侧枝循环的形成,索拉非尼对于VEGFR和PDGFR通路的抑制作用,正好抵消了TACE后VEGF水平升高所带来的不利影响,此为TACE联合索拉非尼的理论基础。一项TACE联合索拉非尼的Ⅱ期亚太地区多中心临床研究(START)结果显示^[45],TACE联合索拉非尼患者的中位无复发生存期为12.8 mo,中位疾病进展时间为13.8 mo,大多数不良反应为1/2级,3/4级不良反应少见。表明TACE与索拉非尼联合使用可以明显提高疗效,不良反应并没有显著叠加。

SHARP研究的亚组分析以及来自亚洲/欧洲的其他研究均显示,HBV/HCV感染的患者均可以从索拉非尼治疗中获益。一般来说,对有肝硬化或活动性肝炎病毒感染的患者药物治疗有很大的障碍,抗病毒药恩替卡韦和替诺福韦最可能与索拉非尼联合治疗此类患者。合并HCV感染的HCC患者,一般仅对根治性切除术后患者采用干扰素/利巴韦林与索拉非尼联合进行辅助治疗。随着HIV感染阳性患者预期寿命逐渐延长,此类患者常见HBV/HCV合并感染,未来几

年, HIV-HBV/HCV人群中HCC的发生率可能会增加, 而该人群普遍存在的合并症特别是病毒性肝炎、受损的免疫功能以及抗反转录病毒药物的使用等使HCC治疗面临挑战, 常见的HIV-HBV感染患者的抗病毒药物有替诺福韦和/或恩曲他滨, HIV-HCV感染的阳性患者的处理更加困难。目前, 针对索拉非尼与高效抗逆转录病毒治疗联合使用的研究仅限于个别病例报道, 认为两者联合时发生重要药物相互作用的几率较小, 联合用药的安全性较好^[46-48]。但确切疗效还需要大规模随机临床研究进行验证。

此外, 有研究将维生素K与血管紧张素转化酶抑制剂联合使用可以降低血清VEGF和甲胎蛋白异质体, 提示两种在临床上广泛使用且没有严重不良反应药物的联合使用可能是预防HCC术后复发的一个新策略^[49]。

5 结论

有高危复发因素的患者术后复发率高, 严重影响手术疗效, 必须采取有效的辅助措施预防术后复发、提高生存率。对于有高危复发因素的肝癌患者, 术后单一的预防复发方法有其局限性, 难以取得理想的效果, 临床上应结合肝癌复发类型及复发的分子机制选择有效的预防复发方法, 并强调术后运用综合治疗措施, 进而提高手术疗效、延长生存时间、改善患者的生活质量。

6 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Wang JH, Changchien CS, Hu TH, Lee CM, Kee KM, Lin CY, Chen CL, Chen TY, Huang YJ, Lu SN. The efficacy of treatment schedules according to Barcelona Clinic Liver Cancer staging for hepatocellular carcinoma - Survival analysis of 3892 patients. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1000-1006 [PMID: 18337087 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.02.018]
- 吴孟超. 关于降低肝癌术后复发率之我见. *中国实用外科杂志* 2012; 32: 793-795
- 丛文铭, 吴孟超. 肝癌术后复发的诊断及治疗-肝癌术后复发发生机制及临床病理学意义. *中国实用外科杂志* 2012; 3: 809-811
- Matsuda M, Yamamoto M, Matsumoto Y. An evaluation of the flow cytometric nuclear DNA analysis of intrahepatic multinodular hepatocellular carcinoma for a diagnosis of their multicentricity. *Surg Today* 1994; 24: 13-18 [PMID: 8054769]
- 何振平. 肝细胞癌多中心发生的诊断和治疗. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 187-189
- Feng YX, Wang T, Deng YZ, Yang P, Li JJ, Guan DX, Yao F, Zhu YQ, Qin Y, Wang H, Li N, Wu MC, Wang HY, Wang XF, Cheng SQ, Xie D. Sorafenib suppresses postsurgical recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma in an orthotopic mouse model. *Hepatology* 2011; 53: 483-492 [PMID: 21274870 DOI: 10.1002/hep.24075]
- 段泽星, 谢立群. VEGF在肿瘤生长和血管生成中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2894-2900
- 常宗宏, 汪泳, 吴汉平. 肝癌的综合治疗及肿瘤抗血管联合疗法. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 385-388
- 窦晓光, 丁洋. HBV相关肝癌复发主要危险因素及抗病毒治疗策略. *中国实用外科杂志* 2012; 32: 811-814
- 阎涛, 赵建军, 毕新宇, 赵宏, 黄振, 李智宇, 周健国, 李原, 李聪. 肝细胞肝癌术后预后因素分析. *中华肿瘤杂志* 2013; 35: 54-58
- Liu WB, Xu GL, Jia WD, Li JS, Ma JL, Chen K, Wang ZH, Ge YS, Ren WH, Yu JH, Wang W, Wang XJ. Prognostic significance and mechanisms of patterned matrix vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma. *Med Oncol* 2011; 28 Suppl 1: S228-S238 [PMID: 20957524 DOI: 10.1007/s12032-010-9706-x]
- Poon RT, Fan ST, Ng IO, Wong J. Significance of resection margin in hepatectomy for hepatocellular carcinoma: A critical reappraisal. *Ann Surg* 2000; 231: 544-551 [PMID: 10749616]
- 卢欣, 赵海涛, 毛一雷, 桑新亭, 徐意瑶, 杜顺达, 徐海峰, 迟天毅, 杨志英, 钟守先, 黄洁夫. 肝细胞肝癌患者术后早期复发情况. *中国医学科学院学报* 2008; 30: 415-420
- Choi KK, Kim SH, Choi SB, Lim JH, Choi GH, Choi JS, Kim KS. Portal venous invasion: the single most independent risk factor for immediate post-operative recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1646-1651 [PMID: 21592228 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06780.x]
- Lee CW, Chan KM, Lee CF, Yu MC, Lee WC, Wu TJ, Chen MF. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma with lymph node metastasis: clinicopathological analysis and survival outcome. *Asian J Surg* 2011; 34: 53-62 [DOI: 10.1016/S1015-9584(11)60020-60021]
- Buczkowski AK, Kim PT, Ho SG, Schaeffer DF, Lee SI, Owen DA, Weiss AH, Chung SW, Scudamore CH. Multidisciplinary management of ruptured hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 379-386 [PMID: 16504883]
- Kim BW, Kim YB, Wang HJ, Kim MW. Risk factors for immediate post-operative fatal recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 99-104 [PMID: 16440425]
- Nobuoka D, Kato Y, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kinoshita T, Nakatsura T. Postoperative serum alpha-fetoprotein level is a useful predictor of recurrence after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 24: 521-528 [PMID: 20596642]
- 池国辉, 曾永毅, 刘景丰. 解剖性与非解剖性肝切除治疗肝细胞癌的疗效比较研究. *福建医科大学学报* 2012; 46: 327-330
- 杨甲梅, 耿利. 大肝癌的手术切除治疗. *肝胆外科杂志* 2010; 18: 3-5
- Peng BG, He Q, Li JP, Zhou F. Adjuvant transcatheter arterial chemoembolization improves efficacy of hepatectomy for patients with hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombus. *Am J Surg* 2009; 198: 313-318 [PMID: 19285298 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.09.026]

■应用要点

对于有高危复发因素的肝癌患者, 临床上应结合肝癌复发类型及复发的分子机制选择有效的预防复发方法, 并强调术后运用综合治疗措施。

■同行评价

本文对HCC存在高危复发因素患者肝切除术后综合治疗的近期研究进展进行综述,认为术后施行综合治疗可提高手术治疗效果,延长患者的生存期。论文有一定的临床参考价值。

- 23 Chen XH, Zhang BH, Qiu SJ, Fan J, Ren ZG, Xia JL, Wang YH, Gan YH, Yin X, Ye SL. [Effect of postoperative adjuvant transarterial chemoembolization on late recurrence of hepatocellular carcinoma after radical resection]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 599-603 [PMID: 20825715 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.08.012]
- 24 Ren ZG, Lin ZY, Xia JL, Ye SL, Ma ZC, Ye QH, Qin LX, Wu ZQ, Fan J, Tang ZY. Postoperative adjuvant arterial chemoembolization improves survival of hepatocellular carcinoma patients with risk factors for residual tumor: a retrospective control study. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2791-2794 [PMID: 15334671]
- 25 Zhong JH, Li LQ. Postoperative adjuvant transarterial chemoembolization for participants with hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Hepatol Res* 2010; 40: 943-953 [PMID: 20887328 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2010.00710.x]
- 26 Ke-Wei L, Tian-Fu W, Xi L, Lü-Nan Y, Bo L, Yong Z, Wu-Sheng L, Wen-Tao W, Ming-Qing X, Jia-Yin Y, Yu-Kui M, Zhe-Yu C. The effect of postoperative TACE on prognosis of HCC with microscopic venous invasion. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1944-1946 [PMID: 22246191 DOI: 10.5754/hge11845]
- 27 Lai EC, Lo CM, Fan ST, Liu CL, Wong J. Postoperative adjuvant chemotherapy after curative resection of hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Arch Surg* 1998; 133: 183-188 [PMID: 9484732]
- 28 秦叔逵, 龚新雷. 索拉非尼治疗原发性肝癌的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2008; 13: 1057-1068
- 29 Lee KT, Wang SR. The Impact of Sorafenib on Early Recurrence of HCC after Hepatic Surgery. 2012 ILCA Annual Conference; 2012 July 25-29; Orlando, Florida. 2012: 80
- 30 王继军, 王丽洁. 索拉非尼在进展期肝癌治疗中的临床应用. *甘肃医药* 2011; 30: 273-275
- 31 Zhong JH, Li H, Li LQ, You XM, Zhang Y, Zhao YN, Liu JY, Xiang BD, Wu GB. Adjuvant therapy options following curative treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review of randomized trials. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38: 286-295 [PMID: 22281155 DOI: 10.1016/j.ejso.2012.01.006]
- 32 Wu WZ, Sun HC, Gao YQ, Li Y, Wang L, Zhou K, Liu KD, Iliakis G, Tang ZY. Reduction in p48-ISGF-gamma levels confers resistance to interferon-alpha2a in MHCC97 cells. *Oncology* 2004; 67: 428-440 [PMID: 15714000]
- 33 Qian YB, Zhang JB, Wu WZ, Fang HB, Jia WD, Zhuang PY, Zhang BH, Pan Q, Xu Y, Wang L, Tang ZY, Sun HC. P48 is a predictive marker for outcome of postoperative interferon-alpha treatment in patients with hepatitis B virus infection-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2006; 107: 1562-1569 [PMID: 16948122]
- 34 Ji J, Shi J, Budhu A, Yu Z, Forgues M, Roessler S, Ambs S, Chen Y, Meltzer PS, Croce CM, Qin LX, Man K, Lo CM, Lee J, Ng IO, Fan J, Tang ZY, Sun HC, Wang XW. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 1437-1447 [PMID: 19812400 DOI: 10.1056/NEJMoa0901282]
- 35 Mazzaferro V, Romito R, Schiavo M, Mariani L, Camerini T, Bhoori S, Capussotti L, Calise F, Pellicci R, Belli G, Tagger A, Colombo M, Bonino F, Majno P, Llovet JM. Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence with alpha-interferon after liver resection in HCV cirrhosis. *Hepatology* 2006; 44: 1543-1554 [PMID: 17133492]
- 36 Hasegawa K, Takayama T, Ijichi M, Matsuyama Y, Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuchi M. Uracil-tegafur as an adjuvant for hepatocellular carcinoma: a randomized trial. *Hepatology* 2006; 44: 891-895 [PMID: 17006925 DOI: 10.1002/hep.21341]
- 37 Xia Y, Qiu Y, Li J, Shi L, Wang K, Xi T, Shen F, Yan Z, Wu M. Adjuvant therapy with capecitabine postpones recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection: a randomized controlled trial. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3137-3144 [PMID: 20602260 DOI: 10.1245/s10434-010-1148-3]
- 38 Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M, Shiina S, Mizuta T, Kojiro M, Yamamoto K, Koike Y, Saito K, Koyanagi N, Kawabe T, Kawazoe S, Kobashi H, Kasugai H, Osaki Y, Araki Y, Izumi N, Oka H, Tsuji K, Toyota J, Seki T, Osawa T, Masaki N, Ichinose M, Seike M, Ishikawa A, Ueno Y, Tagawa K, Kuromatsu R, Sakisaka S, Ikeda H, Kuroda H, Kokuryu H, Yamashita T, Sakaida I, Katamoto T, Kikuchi K, Nomoto M, Omata M. Effect of vitamin K2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 532-540 [PMID: 21574174 DOI: 10.1002/hep.24430]
- 39 Kakizaki S, Sohara N, Sato K, Suzuki H, Yanagisawa M, Nakajima H, Takagi H, Naganuma A, Otsuka T, Takahashi H, Hamada T, Mori M. Preventive effects of vitamin K on recurrent disease in patients with hepatocellular carcinoma arising from hepatitis C viral infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 518-522 [PMID: 17376044]
- 40 Mizuta T, Ozaki I, Eguchi Y, Yasutake T, Kawazoe S, Fujimoto K, Yamamoto K. The effect of menatetrenone, a vitamin K2 analog, on disease recurrence and survival in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment: a pilot study. *Cancer* 2006; 106: 867-872 [PMID: 16400650]
- 41 Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, Tanaka T, Tsurumi K, Okuno M, Tomita E, Nakamura T, Kojima T. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, poly-prenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 1561-1567 [PMID: 8628336]
- 42 Kuzuya T, Katano Y, Kumada T, Toyoda H, Nakano I, Hirooka Y, Itoh A, Ishigami M, Hayashi K, Honda T, Goto H. Efficacy of antiviral therapy with lamivudine after initial treatment for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1929-1935 [PMID: 17914972]
- 43 Piao CY, Fujioka S, Iwasaki Y, Fujio K, Kaneyoshi T, Araki Y, Hashimoto K, Senoh T, Terada R, Nishida T, Kobashi H, Sakaguchi K, Shiratori Y. Lamivudine treatment in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma--using an untreated, matched control cohort. *Acta Med Okayama* 2005; 59: 217-224 [PMID: 16286955]
- 44 Wong JS, Wong GL, Tsoi KK, Wong VW, Cheung SY, Chong CN, Wong J, Lee KF, Lai PB, Chan HL. Meta-analysis: the efficacy of anti-viral therapy in prevention of recurrence after curative treatment of chronic hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1104-1112 [PMID: 21488914 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04634.x]

- 45 Study in Asia of the Combination of TACE With Sorafenib in HCC Patients(START). Available from: www.clinicaltrials.gov
- 46 Chelis L, Ntinou N, Souftas V, Deftereos S, Xenidis N, Chamalidou E, Maltezos E, Kakolyris S. Complete response after sorafenib therapy for hepatocellular carcinoma in an HIV-HBV co infected patient: Possible synergy with HAART ? A case report. *Med Oncol* 2011; 28 Suppl 1: S165-S168 [PMID: 20809183 DOI: 10.1007/s12032-010-9669-y]
- 47 Schott E, Ebert MP, Trojan J. Treatment of hepatocellular carcinoma with sorafenib - focus on special populations and adverse event management. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 1018-1027 [PMID: 22965633]
- 48 Perboni G, Costa P, Fibbia GC, Morandini B, Scalzini A, Tagliani A, Cengarle R, Aitini E. Sorafenib therapy for hepatocellular carcinoma in an HIV-HCV coinfecting patient: a case report. *Oncologist* 2010; 15: 142-145 [PMID: 20142333 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-0010]
- 49 Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Yamazaki M, Yamao J, Mito A, Sawai M, Yoshida M, Fujimoto M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Uemura M, Fukui H. Combination of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2009; 51: 315-321 [PMID: 19501932 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.04.011]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

腺病毒携带IL-12治疗肝癌细胞株HepG2的体外实验

崔清昱, 秦万民, 张炳远, 刘世海, 孙传东

■背景资料

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上最流行的癌症之一, 在癌症导致死亡的疾病中居第3位, 原发性HCC在我国高发, 目前我国发病人数约占全球的55%, 在肿瘤相关死亡中仅次于肺癌, 居第2位. 肝炎病毒感染导致的HCC估计可以达到全球HCC病例的78%. HCC具有发现较晚, 发展迅速, 侵袭性强, 转移早, 预后差的特点. 由于HCC通常发现时已晚, 已丧失最佳手术时机, 或可切除, 但可早期出现转移, 而切除效果不够理想, 对常规免疫治疗效果不够理想, 同时由于其对目前药物化学治疗不够敏感, 且不良反应较大, 所以开发一种新式, 有效的治疗方法成为当务之急.

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

崔清昱, 秦万民, 张炳远, 孙传东, 青岛大学附属医院普外二科 山东省青岛市 266071

刘世海, 青岛大学中心实验室 山东省青岛市 266071

崔清昱, 在读硕士, 主要从事胃肠肝胆外科的相关研究.

山东省2012科学技术发展计划基金资助项目, No. 2012G0021845

山东省自然科学基金资助项目, No. 2011ZRB01588

青岛市科技计划基础研究基金资助项目, No. 11-2-4-2-(28)-jch

作者贡献分布: 崔清昱与孙传东对此文所作贡献均等; 此课题由崔清昱、秦万民及孙传东设计; 研究过程由崔清昱与秦万民操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘世海提供; 数据分析由崔清昱完成; 张炳远参与课题的设计与指导; 论文写作由崔清昱与孙传东完成.

通讯作者: 孙传东, 副主任医师, 266071, 山东省青岛市市南区江苏路19号, 青岛大学附属医院普外二科. sunchuandong@hotmail.com
收稿日期: 2013-06-11 修回日期: 2013-07-10

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

In vitro antitumor effect of an adenoviral vector expressing IL-12 in HepG2 cells

Qing-Yu Cui, Wan-Min Qin, Bing-Yuan Zhang, Shi-Hai Liu, Chuan-Dong Sun

Qing-Yu Cui, Wan-Min Qin, Bing-Yuan Zhang, Chuan-Dong Sun, Department of General Surgery (Division II), Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Shi-Hai Liu, Central Laboratory, Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Supported by: the Science and Technology Development Program of Shandong Province, No. 2012G0021845; the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. 2011ZRB01588; the Science and Technology Foundation of Qingdao, No. 11-2-4-2-(28)-jch

Correspondence to: Chuan-Dong Sun, Associate Chief Physician, Department of General Surgery (Division II), Qingdao University Affiliated Hospital, 19 Jiangsu Road, Shinan District, Qingdao 266071, Shandong Province, China. sunchuandong@hotmail.com

Received: 2013-06-11 Revised: 2013-07-10

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To explore whether an adenoviral vector expressing the interleukin-12 (IL-12) gene (AdvIL-12) can induce a strong anti-hepatic carcinoma effect *in vitro*.

METHODS: HepG2 cells transfected with AdvIL-12 were cultured as the experimental group, and cells transfected with Adv-GFP or non-trans-

fected cells were used as controls. The scratch test was used to detect the migration of AdvIL-12-infected HepG2 cells. The crystal violet staining assay was used to examine the survival of HepG2 cells. MTT assay was used to assess the proliferation of HepG2 cells. TUNEL assay was used to detect the apoptosis of HepG2 cells.

RESULTS: AdvIL-12-infection inhibited the migration of HepG2 cells in a dose-dependent manner. In the experimental group, the dye depth of crystal violet staining deepened with the decrease in the concentration of AdvIL-12. The killing effect of 10 μ L of AdvIL-12 had the most obvious killing effect on HepG2 cells. The absorbance values differed significantly between the AdvIL-12 group, Adv-GFP group and non-transfected HepG2 group ($F_1 = 95.7$, $F_2 = 103.6$, $F_3 = 165.8$, $P < 0.01$) after culture for 24, 48 or 72 h. Under an optical microscope, typical apoptotic cells were visible. The number of apoptotic cells in the experimental group was significantly more than those in the two control groups.

CONCLUSION: AdvIL-12 infection can effectively inhibit the ability of HepG2 cells to grow, proliferate and migrate and promote the apoptosis of HepG2 cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adenovirus; Interleukin-12; Hepatocellular carcinoma; TUNEL

Cui QY, Qin WM, Zhang BY, Liu SH, Sun CD. *In vitro* antitumor effect of an adenoviral vector expressing IL-12 in HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3190-3197 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3190>

摘要

目的: 探讨腺病毒介导的白介素12(interleukin-12, IL-12)基因(AdvIL-12)转染能否在体外诱导出更强的抗(hepatocellular carcinoma, HCC)免疫效应.

方法: 在体外, 用AdvIL-12转染HepG2作为实验组, 以Adv-绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)转染的HepG2和未转染的HepG2作为对照组进行培养. 用划痕试验检测载有IL-12的腺病毒对HepG2细胞的迁移能力的影响; 结晶紫法检测对HepG2的生长能力的抑制和杀伤作用; MTT检测对HepG2细胞增殖能力的抑制作用的影响; TUNEL法检测对HepG2细胞的凋亡效应的影响.

结果: 正常生长的HepG2单层贴壁生长, 生长旺盛, 镜下观察为梭形, 胞浆均质透明, 折光性好, 胞间紧密连接, 核质均匀, 核仁清晰可见. 实验组AdvIL-12作用24 h后HepG2细胞迁移距离明显受到抑制, 且随浓度增大, HepG2细胞向划痕区移动的距离越来越小, 细胞数量越少, 划痕越宽. 实验组AdvIL-12结晶紫染色深度随浓度梯度减少而逐渐加深. 取10 μ L AdvIL-12时对HepG2细胞杀伤效果最为明显. 酶标仪检测AdvIL-12组、Adv-GFP组和HepG2空白对照组分别培养24、48、72 h后的A值($F1 = 95.7$, $F2 = 103.6$, $F3 = 165.8$, $P < 0.01$)与对照组相比有统计学意义. 光镜下可见凋亡细胞明显固缩, 体积变小, 胞质致密, 核浓缩甚至消失, 形成凋亡小体. 实验组AdvIL-12组凋亡细胞数量明显多于对照组Adv-GFP组.

结论: 转染AdvIL-12的HepG2细胞能有效抑制HepG2细胞的生长, 增殖和迁移能力, 效果随浓度增大而增强, 并能够促进HepG2细胞的凋亡效应, 从而在体外达到明显的肿瘤抑制作用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腺病毒; 白介素-12; 肝癌; TUNEL

核心提示: 本文采用最新腺病毒作为载体携带白介素12(interleukin-12, IL-12)在体外研究对肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的抗肿瘤效果. 通过对HCC细胞株HepG2的生长、增殖、迁移以及凋亡的影响得出腺病毒能够良好的携带IL-12并通过免疫机制有效的抑制HCC细胞的生长. 在实际应用中, 可以通过开发相关的免疫疫苗来达到治疗目的.

崔清昱, 秦万民, 张炳远, 刘世海, 孙传东. 腺病毒携带IL-12治疗肝癌细胞株HepG2的体外实验. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3190-3197 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3190>

0 引言

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上最

流行的癌症之一, 在癌症导致死亡的疾病中排名第3^[1], 原发性HCC在我国高发, 目前我国发病人数约占全球的55%, 在肿瘤相关死亡中仅次于肺癌, 居第2位. 肝炎病毒感染导致的HCC估计可以达到全球HCC病例的78%^[2].

HCC具有发现较晚, 发展迅速, 侵袭性强, 转移早, 预后差的特点. 治疗方法根据肿瘤情况, 肝脏功能, 全身身体状况和治疗效果而制定, 主要有经皮穿刺消融、外科切除、肝移植和生物疗法. 由于HCC通常发现时已晚, 已丧失最佳手术时机, 或可切除, 但可早期出现转移, 而切除效果不够理想. 肝脏细胞由于缺乏对肿瘤相关性抗原(tumor associated antigen, TAA)的识别, 无法做出有效的免疫反应. 因此对常规免疫治疗效果不够理想, 同时由于其对目前药物化学治疗不够敏感, 且不良反应较大, 所以开发一种新式, 有效的治疗方法成为当务之急^[3].

白介素12(interleukin-12, IL-12)是一种由p35和p40组成的异二聚体结构的细胞因子, 又称为细胞毒淋巴细胞成熟因子(cytotoxic lymphocyte maturation factor, CLMF)、NK细胞刺激因子(natural killer cell stimulatory factor, NKSF), 主要由抗原递呈细胞产生, 其中单核/巨噬细胞和B细胞是产生IL-12的主要细胞, 有很强的免疫调节作用. 能诱导NK和T细胞产生干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、IL-2等细胞因子, 促进初始Th0细胞向Th1细胞分化、增殖和成熟, 抑制Th2细胞活性, 调节机体细胞免疫反应^[4,5]; 能通过诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤组织新生血管的生成而直接抑制肿瘤生长^[6]; 能诱导并增强NK细胞和CTL细胞的增殖及细胞不良反应, 介导其抗肿瘤作用的细胞免疫应答; 并能介导IFN- γ 的分泌增加p53的激活. P53能够通过介导肿瘤细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长^[7,8].

但是IL-12的全身应用给机体带来的不良反应较大如发热、恶心、呕吐白细胞减少等^[9], 在小鼠或者猴子等动物模型中全身性使用IL-12可以产生可逆的、剂量依赖性的对外周血液的抑制(贫血、白细胞缺乏、血小板减少), 这些情况与脾大及其能致脾髓造血功能亢进有关^[10]. 在肾癌肿的IL-12全身性治疗的临床一期试验已经完成, 二期试验虽然由于明显的不良反应而阻滞, 但是毒性很快被其他方法所克服^[11], 因此无法全身应用药物. 于是人们尝试在动物模型体内试验中, 在肿瘤局部皮下接种注射IL-12, 结果显示可增强局部肿瘤免疫反应使皮下肿瘤消退,

■创新盘点

本文通过MTT方法在不同的时间点, 不同浓度的病毒证实腺病毒携带IL-12能够在不同程度上抑制HepG2细胞的生长, 并能够随时间和浓度呈逐渐升高趋势, 即在一定时间内, 病毒对HepG2细胞增殖能力的抑制能够随浓度增加而增强并用TUNEL方法来观察HCC细胞的凋亡取得较好的效果.

■同行评价

本文设计合理,逻辑性强,具有一定的理论意义和潜在的临床价值。

同时又不会导致循环血中的IL-12浓度过高。但是,由于肝内局部注射IL-12对操作要求较高,半衰期短,反复给药可致全身不良反应大且疗效也不够理想^[12,13]。随着分子生物学、免疫学和基因转移技术的发展,人们尝试着通过新式的基因载体如腺病毒、逆转录病毒和疫苗病毒等来治疗肝脏肿瘤^[14]。因此,IL-12基因治疗的局部应用成为研究关键和难点。

本实验应用腺病毒(adenovirus, Adv)作载体,将IL-12基因转染到HepG2细胞中,观察体外HepG2细胞的生长、增殖、迁移和凋亡的作用。并为日后进一步研究腺病毒携带IL-12增强HCC抗原致敏树突细胞提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 重组人AdvIL-12和对照腺病毒载体Adv-绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)由上海吉凯基因化学技术有限公司构建;HCC HepG2细胞株购自青医附院中心实验室细胞库;培养液DMEM为美国Hyclone公司产品;新生牛血清(newborn bovine serum, NBS, 杭州四季青生物工程材料有限公司);TUNEL(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling)试剂盒购自promega北京生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: (1)选生长良好,约铺满80%瓶底的HepG2细胞,吸弃培养瓶内的旧培养基;(2)用37℃ PBS液3-4 mL,轻轻漂洗细胞,以除去残留的培养基。加入0.25%胰酶溶液1 mL,消化2-3 min,镜下观察消化情况,发现细胞胞质回缩,细胞变圆、间隙增大时终止消化;(3)轻轻倒掉瓶内的胰酶溶液。加入含10%FBS的培养基DMEM培养基10 mL,用吸管轻轻吹打,令细胞悬浮混匀,制成单细胞悬液。把此细胞悬液按1:3至1:4分装到无菌培养瓶中继续培养;(4)用含10%新生牛血清的DMEM培养液培养,在饱和湿度,37℃、5%CO₂培养箱中培养,待细胞完全贴壁生长后,更换培养液1次,以后每1-2 d换液1次,视接种的细胞密度不同,一般3-4 d长满瓶底80%,可再次消化传代。

1.2.2 转染: (1)取对数期HepG2细胞用无血清的培养液将制成悬液,接种于24孔板,用感染性滴度为 2×10^8 PFU/mL的AdvIL-12和Adv-GFP分别转染HepG2细胞;(2)于饱和湿度,37℃、5%CO₂培养箱中培养4 h后,去上清液,用PBS洗细胞1遍后加入含10%新生牛血清的DMEM培养液

继续培养;(3)分别标记为AdvIL-12/HepG2细胞和Adv-GFP/HepG2细胞,未转染的细胞标记为HepG2细胞。

1.2.3 细胞划痕试验: (1)先用marker笔在6孔板后面,均匀笔直的划3道线。将对数期HepG2细胞悬液接种于用marker笔标记过的6孔板中,每孔约 5×10^5 个细胞,置于饱和湿度,37℃、5%CO₂培养箱中培养;(2)待细胞覆盖孔底80%以上时,大约6 h后在单层细胞表现用1 mL枪头在孔中垂直于培养板划痕划一直线,然后用PBS清洗2次以去除划下的悬浮细胞,去除上清液,分别按1、0.1、0.01浓度将AdvIL-12和Adv-GFP加入6孔板中形成对照,加入不含血清的培养基培养;(3)4 h后去上清液,用PBS洗细胞1遍后加入含10%新生牛血清的DMEM培养液继续培养;(4)待12、24、48 h时分别观察显微镜观察划痕中细胞迁移情况。

1.2.4 结晶紫试验: (1)取对数期HepG2细胞悬液接种于24孔板中,置于饱和湿度,37℃、5%CO₂培养箱中培养;(2)待细胞覆盖孔底80%以上时,按浓度10、1、0.1、0.01、0.001、0.0001无血清培养液倍比稀释的AdvIL-12、Adv-GFP分别加入感染;(3)感染4 h后,加入含血清培养液继续培养12 h,倒掉培养液,用PBS清洗1遍;(4)加入甲醇与乙酸按3:1比例混合液固定10 min后倒掉,加入结晶紫染色液染10 min,用吸管洗掉后蒸馏水清洗3遍,晾干。

1.2.5 MTT法检测: (1)取对数生长期的HepG2细胞消化,方法同上,用计数板技术制成 2×10^4 /mL浓度的细胞悬液;(2)将细胞接种到96孔板中,每孔200 μ L,约 3×10^4 个/孔的HepG2细胞分为3组,感染组AdvIL-12,感染组Adv-GFP和未感染组HepG2分别进行感染,按浓度10、1、0.1、0.01、0.001无血清培养液倍比稀释培养4 h后;(3)弃上清,加入含血清培养液继续培养后在12、24、48 h分别进行检测;(4)加入无血清培养基溶解的MTT(终质量浓度5 mg/L事先用PBS调节pH<7.4),在37℃下孵育4 h,然后用1 mL针管洗掉上清(防止将甲臞吸出,再加入150 μ L/孔DMSO震荡10 min后使紫色结晶充分溶解);(5)用酶联免疫检测仪在490 nm处检测吸光度(A)值。抑制率计算:细胞生长抑制率 = [对照组平均A值-实验组平均A值]/对照组平均A值 $\times 100\%$ 。

1.2.6 TUNEL法检测: 将对数期HepG2细胞消化后,用10%血清DMEM培养基制成 1×10^6 个/mL的细胞悬液,种到单个25 cm²培养皿中(提前

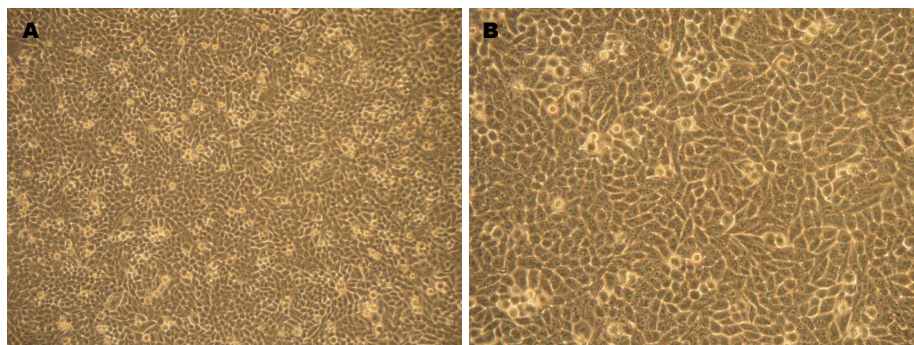


图1 正常HepG2细胞. A: $\times 100$; B: $\times 300$.

画圈), 如上法分3组加入病毒感染4 h后, 去上清, 加入含血清培养液继续培养12 h, 然后参考TUNEL试剂盒操作规范进行操作. (1)4%多聚甲醛固定25 min. 用PBS清洗3遍; (2)加入0.2% Tritonx-100通透细胞5 min, 用PBS清洗3遍; (3)在冰上加50 μL TUNEL孵育液: 平衡缓冲液44 μL , 核苷混合物5 μL , rTdT酶(在DNA的3'羟基末端掺入荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷即fluorescein-12-dUTP)重组末端脱氧核苷酸转移酶1 μL ; 每组设阴性对照不加含rTdT的孵育缓冲液; (4)避光下37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内孵育60 min加尾反应; (5)加入柠檬酸钠缓冲液20 \times SSC稀释到2 \times SSC 15 min, PBS洗3次以除去掺入的荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷; (6)加碘化丙啶(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)静置15 min; 去离子水洗3次; (7)在荧光显微镜下观察蓝色荧光和红色荧光.

统计学处理 将数据资料输入SPSS11.5统计软件进行分析, 对数据进行统计及检验. 数据结果以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 差表示, 单因素方差分析比较有无显著性差异, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 倒置显微镜下观察正常HepG2细胞的生长 HepG2单层贴壁生长, 生长旺盛, 细胞轮廓清楚, 相互排列紧密, 连接成大片, 镜下观察为梭形, 胞浆均质透明, 折光性好, 胞间连接紧密. 高倍镜下显示细胞核大, 核质均匀, 核仁清晰可见(图1).

2.2 细胞划痕试验 加入1 μL AdvIL-12作用24 h, 与对照试验Adv-GFP相比可见HepG2细胞迁移距离明显受到抑制, 且随浓度增大, HepG2细胞向划痕区移动的距离越来越小, 细胞数量越少, 划痕越宽, 浓度越少, 迁移的距离越大, 划痕越窄(图2).

2.3 结晶紫染色观察 实验组AdvIL-12结晶紫染色深度随浓度梯度减少而逐渐加深, 染色越深

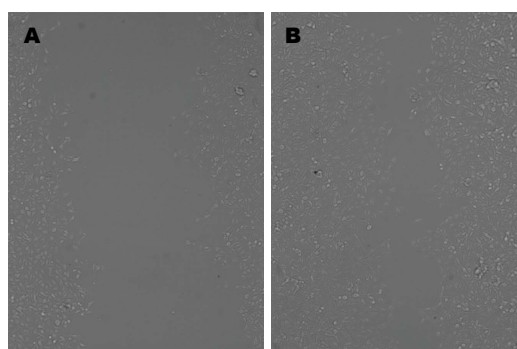


图2 24 h不同浓度的AdvIL-12和Adv-GFP对HepG2细胞迁移能力的影响($\times 40$). A: AdvIL-12; B: Adv-GFP.

说明HepG2细胞存活越多, 生长越好, 病毒对细胞的杀伤力越弱. 取10 mL AdvIL-12时对HepG2细胞杀伤效果最为明显, 基本可完全杀灭HepG2细胞; 0.01 μL 杀伤效果已不明显, 0.001 μL 时基本对效果对HepG2细胞生长无明显影响. 对照实验Adv-GFP无染色浓度变化, 即对HepG2细胞生长无明显影响(图3).

2.4 MTT法检测细胞增殖能力 用酶标仪检测AdvIL-12组、Adv-GFP组和HepG2空白对照组分别在培养24、48、72 h后的A值如表1, 其在24、48、72 h各实验组A值($F_1 = 95.7$, $F_2 = 103.6$, $F_3 = 165.8$, $P < 0.01$)与对照组相比有统计学意义, 且结果表明出现不同程度的生长抑制作用, 随时间和浓度呈逐渐升高趋势, 即在一定时间内, 病毒对HepG2细胞增殖能力的抑制能够随浓度增加而增强(图4).

2.5 TUNEL法检测 光镜下可见凋亡细胞明显固缩, 体积变小, 胞质致密, 核浓缩以致消失, 形成凋亡小体. 阳性结果由于凋亡的细胞DNA断裂而出现缺口, 在脱氧核糖核苷酸末端转移酶(rTdT)作用下与荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷掺入而呈现出定位的绿色荧光, 聚集在核周边. 非凋亡, 正常生长的和凋亡但未与荧光素反应的

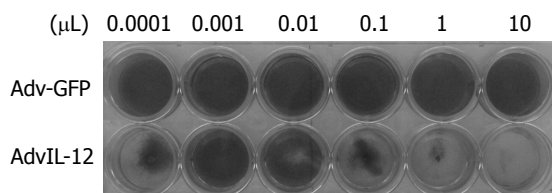


图3 不同浓度的AdvIL-12对HepG2细胞杀伤效果, 即对其生长能力的影响。

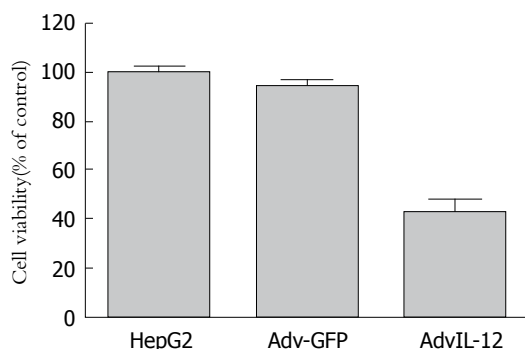


图4 实验组AdvIL-12与Adv-GFP组在24 h时测定A值比较HepG2细胞增殖能力。

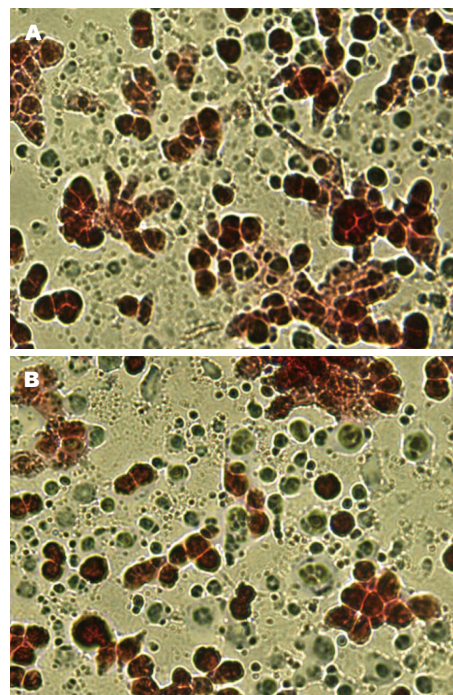


图5 实验组AdvIL-12组凋亡细胞数量明显多于对照组Adv-GFP组($\times 40$)。A: AdvIL-GFP; B: AdvIL-12。

HepG2细胞均可被碘化丙啶染色而成红色。实验组AdvIL-12组凋亡细胞数量明显多于对照组Adv-GFP组(图5)。

3 讨论

IL-12又称为细胞毒淋巴细胞成熟因子, 主要由抗原呈递细胞产生的异二聚体。其中单核/巨噬细胞和B细胞是产生IL-12的主要细胞, 有很强的免疫调节作用^[15]。

首先, IL-12一方面快速磷酸化IFN- γ 元件信号形成核内DNA结合物与转录活化因子3、4(signal transducers and activators of transduction, STAT3/4)和活化蛋白1(activator protein, AP-1)一起作用于IFN- γ 激活位点元件, 诱导IFN- γ 的分泌^[16]和促进初始Th0向Th1细胞分化、增殖、调节机体免疫状态, 另外, 能够阻碍IL-4对IFN- γ 合成的抑制, 间接促进IFN- γ 分泌^[17-19]; 其次, 高分泌的IFN- γ 能促进NK细胞和CTL细胞的增殖和细胞不良反应, 使其处于有效发挥抗肿瘤作用的免疫应答状态^[5]; 再次, IL-12介导的IFN- γ 的分泌能够增加p53的激活并能够通过介导肿瘤细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长能通过诱导肿瘤细胞凋亡^[8]。同时, IFN- γ 能够刺激单核细胞, 内皮细胞和成纤维细胞合成CxCL10(IP-10)和CxCL9(Mig)等趋化因子, 来抑制新的血管的生成。相关的体内IL-12试验结果

表明肿瘤细胞中CxCL10和CxCL9的高表达, 同样也说明IL-12有促进抗肿瘤血管生成的作用^[7,20]。此外还能抑制肿瘤组织新生血管的生成对肿瘤直接抑制上调钙黏着蛋白(E-cadherin)和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)水平, 抑制肿瘤细胞迁移^[21]。

由于全身应用IL-12的基因治疗全身不良反应大^[22], 由于病毒载体具有转染效率高等优点而应用最多。特别是腺病毒载体, 其作为载体具备高度感染性, 易培育出高浓度滴度, 由于E1区域被删除而无法提呈感染性复制, 并且由于只有约8 kb大小克隆片段, 而易扩增后插入任何克隆的细胞因子cDNAs^[23], 因此高稳定性、高滴度、无插入、不整合突变等优点而使腺病毒被作为首选载体使用。腺病毒载体发展经历了3代, 第1代腺病毒载体通过删除E1区域而表现出极强的免疫原性^[24], 从而限制其用药剂量及用药次数。第2代腺病毒载体通过降低免疫原性在第1代基础上发展, 但由于其感染力低所以没有得到广泛应用。尽管基因治疗有许多不足, 但是由于它能够促进细胞因子的表达, 为抗肿瘤免疫治疗的发展提供辅助性刺激而成为近年所研究的方向。近几年无肠腺病毒载体作为第3代腺病毒载体出现。无肠腺病毒载体免疫原性大大减弱, 并且将所有编码病毒基因的序列全部去除, 只保留末端重复序列, 可携带36000 bp外源基因。并

表 1 不同浓度的AdvIL-12对HepG2细胞各时间段的A值 (mean ± SD)

分组	不同时间段								
	24 h	F1	P值	48 h	F2	P值	72 h	F3	P值
10 μL	0.444 ± 0.005			0.356 ± 0.041			0.501 ± 0.050		
1 μL	0.443 ± 0.007			0.445 ± 0.019			0.721 ± 0.028		
0.1 μL	0.442 ± 0.006			0.552 ± 0.034			0.968 ± 0.081		
0.01 μL	0.447 ± 0.005			0.628 ± 0.028			0.980 ± 0.081		
0.001 μL	0.446 ± 0.005			0.651 ± 0.042			1.158 ± 0.085		
对照组	0.450 ± 0.006	95.7	<0.01	0.745 ± 0.023	103.6	<0.01	1.324 ± 0.052	165.8	<0.01

已有学者通过HCC体外实验证实通过腺病毒介导IL-24基因在人HCC细胞中能够高表达, 能促使细胞增殖阻滞及诱导肿瘤细胞凋亡, 选择性杀伤HCC细胞^[25-27]. Wang等^[28]将腺病毒携带IL-12基因用来治疗小鼠原发性HCC, 其体内表达较为稳定, 最长可达一年, 显著抑制了HCC的生长及转移.

本实验通过用腺病毒携带IL-12转染HepG2细胞的划痕实验与对照试验Adv-GFP相比可见HepG2细胞迁移距离明显受到抑制, 且随浓度增大, HepG2细胞向划痕区移动的距离越来越小, 细胞数量越少, 划痕越宽, 浓度越少, 迁移的距离越大, 划痕越窄. 说明腺病毒携带IL-12能够明显限制HepG2细胞的迁移能力. 实验组AdvIL-12结晶紫染色深度随浓度梯度减少而逐渐加深, 染色越深说明HepG2细胞存活越多, 生长较好, 病毒对细胞的杀伤力越弱. 取10 μL AdvIL-12时对HepG2细胞杀伤效果最为明显, 基本可完全杀灭HepG2细胞; 0.01 μL杀伤效果已不明显, 0.001 μL时基本对效果对HepG2细胞生长无明显影响. 对照实验Adv-GFP无染色浓度变化, 对HepG2细胞生长无明显影响. 用酶标仪检测AdvIL-12组、Adv-GFP组和HepG2空白对照组分别在培养24、48、72 h后的A值如表1, 其在24、48、72 h各实验组A值(F1 = 95.7, F2 = 103.6, F3 = 165.8, $P < 0.01$)与对照组相比有统计学意义, 且结果表明出现不同程度的生长抑制作用, 随时间和浓度呈逐渐升高趋势, 即在一定时间内, 病毒对HepG2细胞增殖能力的抑制能够随浓度增加而增强. 光镜下可见凋亡细胞明显固缩, 体积变小, 胞质致密, 核浓缩以致消失, 形成凋亡小体. 阳性结果由于凋亡的细胞DNA断裂而出现缺口, 在脱氧核糖核苷酸末端转移酶(rTdT)作用下与荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷掺入而呈现出定位的绿色荧光, 聚集在核周边. 非凋亡, 正常生长

的和凋亡但未与荧光素反应的HepG2细胞均可被碘化丙啶染色而成红色. 实验组AdvIL-12组凋亡细胞数量明显多于对照组Adv-GFP组.

上述实验在体外充分说明通过腺病毒携带IL-12能够对HepG2细胞的迁移能力、增殖、生长能力起到明显的抑制作用, 对其杀伤力较为明显; 且能有效促进HepG2细胞的凋亡.

目前, 大量研究表明IL-12在抗肿瘤免疫反应中起到重要作用. 但是IL-12在人类临床实验中作用效果仍然是不够理想的. 并且在晚期肿瘤中, IL-12在以往的研究中表明可能由于免疫抑制所支配的微环境而导致的效率低下^[29]. 有关IL-12的新型药物实验的发展主要关注与如何减少IL-12明显的不良反应. 2011-07美国国家健康研究所批准了一期新型药物NHS-IL12用于对实体瘤的治疗. 这种药物通过选择性靶向运输IL-12作用于肿瘤细胞来减少其不良反应(<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01417546>). 新型的NHS-IL-12由两个IL-12异构体构成, 每一条单链与NHS76中的H-链相连, 其具有与DNA单双链亲和的能力. 所以, NHS-IL-12能够靶向性将IL-12运送到DNA暴露的肿瘤区域. 可以预测这种药物的诞生将有助于避免IL-12的不良反应.

虽然肿瘤免疫研究取得了巨大进展, 但对肿瘤细胞究竟如何诱导免疫耐受并逃避免疫识别的确切机制尚未充分了解. 此外, 如何有效的将细胞因子运送到作用靶点, 并尽可能减少不良反应成为今后基因治疗肿瘤的研究重点之一; 以IL-12为基础的免疫治疗联合其他抗癌药物包括小分子靶向抑制剂, 替西罗莫司, 索拉菲尼和贝伐单抗等单克隆抗体联合应用将有着广泛前景. 可以预见不久的将来, 随着基因治疗载体、基因转移技术及基因表达调控系统的不断发展, 以IL-12为基础的基因治疗一定会为包括HCC在内的肿瘤治疗提供新的途径.

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 2 Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-538 [PMID: 16879891 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.013]
- 3 Liu LX, Zhang WH, Jiang HC. Current treatment for liver metastases from colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 193-200 [PMID: 12532430]
- 4 Nelson R, Freels S. Hepatic artery adjuvant chemotherapy for patients having resection or ablation of colorectal cancer metastatic to the liver. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (2): CD003770 [PMID: 15106219 DOI: 10.1002/14651858.CD003770.pub2]
- 5 Del Vecchio M, Bajetta E, Canova S, Lotze MT, Wesa A, Parmiani G, Anichini A. Interleukin-12: biological properties and clinical application. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4677-4685 [PMID: 17699845 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0776]
- 6 Coughlin CM, Salhany KE, Gee MS, LaTemple DC, Kotenko S, Ma X, Gri G, Wysocka M, Kim JE, Liu L, Liao F, Farber JM, Pestka S, Trinchieri G, Lee WM. Tumor cell responses to IFN γ affect tumorigenicity and response to IL-12 therapy and antiangiogenesis. *Immunity* 1998; 9: 25-34 [PMID: 9697833 DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80585-3]
- 7 Kanegane C, Sgadari C, Kanegane H, Teruya-Feldstein J, Yao L, Gupta G, Farber JM, Liao F, Liu L, Tosato G. Contribution of the CXC chemokines IP-10 and Mig to the antitumor effects of IL-12. *J Leukoc Biol* 1998; 64: 384-392 [PMID: 9738666]
- 8 Takaoka A, Hayakawa S, Yanai H, Stoiber D, Negishi H, Kikuchi H, Sasaki S, Imai K, Shibue T, Honda K, Taniguchi T. Integration of interferon- α /beta signalling to p53 responses in tumour suppression and antiviral defence. *Nature* 2003; 424: 516-523 [PMID: 12872134 DOI: 10.1038/nature01850]
- 9 Veltri S, Smith JW. Interleukin 1 trials in cancer patients: a review of the toxicity, antitumor and hematopoietic effects. *Stem Cells* 1996; 14: 164-176 [PMID: 8991536 DOI: 10.1002/stem.140164]
- 10 Gately MK, Warriar RR, Honasoge S, Carvajal DM, Faherty DA, Connaughton SE, Anderson TD, Sarmiento U, Hubbard BR, Murphy M. Administration of recombinant IL-12 to nonnal mice enhances cytolytic lymphocytes activity and induces production of IFN γ in vivo. *Int Immunol* 1994; 6: 157-167 [PMID: 7908534 DOI: 10.1093/intimm/6.1.157]
- 11 Cohen J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle. *Science* 1995; 270: 908 [PMID: 7481785 DOI: 10.1126/science.270.5238.908a]
- 12 Car BD, Eng VM, Schnyder B, LeHir M, Shakhov AN, Woerly G, Huang S, Aguet M, Anderson TD, Ryffel B. Role of interferon- γ in interleukin 12-induced pathology in mice. *Am J Pathol* 1995; 147: 1693-1707 [PMID: 7495294]
- 13 Orange JS, Salazar-Mather TP, Opal SM, Spencer RL, Miller AH, McEwen BS, Biron CA. Mechanism of interleukin 12-mediated toxicities during experimental viral infections: role of tumor necrosis factor and glucocorticoids. *J Exp Med* 1995; 181: 901-914 [PMID: 7869050 DOI: 10.1084/jem.181.3.901]
- 14 Pardoll DM. Paracrine cytokine adjuvants in cancer immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 399-415 [PMID: 7612229 DOI: 10.1146/annurev.iy]
- 15 Suzuki S, Umez Y, Saijo Y, Satoh G, Abe Y, Satoh K, Nukiwa T. Exogenous recombinant human IL-12 augments MHC class I antigen expression on human cancer cells in vitro. *Tohoku J Exp Med* 1998; 185: 223-226 [PMID: 9823783 DOI: 10.1620/tjem.185.223]
- 16 Foukas LC, Panayotou G, Shepherd PR. Direct interaction of major histocompatibility complex class II-derived peptides with class Ia phosphoinositide 3-kinase results in dose-dependent stimulatory effects. *J Biol Chem* 2004; 279: 7505-7511 [PMID: 14660637 DOI: 10.1074/jbc.M303999200]
- 17 Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, Loudon R, Sherman F, Perussia B, Trinchieri G. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med* 1989; 170: 827-845 [PMID: 2504877 DOI: 10.1084/jem.170.3.827]
- 18 Robertson MJ, Soiffer RJ, Wolf SF, Manley TJ, Donahue C, Young D, Herrmann SH, Ritz J. Response of human natural killer (NK) cells to NK cell stimulatory factor (NKSF): cytolytic activity and proliferation of NK cells are differentially regulated by NKSF. *J Exp Med* 1992; 175: 779-788 [PMID: 1346796 DOI: 10.1084/jem.175.3.779]
- 19 Gately MK, Wolitzky AG, Quinn PM, Chizzonite R. Regulation of human cytolytic lymphocyte responses by interleukin-12. *Cell Immunol* 1992; 143: 127-142 [PMID: 1352483 DOI: 10.1016/0008-8749(92)90011-D]
- 20 Wigginton JM, Gruys E, Geiselhart L, Subleski J, Komschlies KL, Park JW, Wiltout TA, Nagashima K, Back TC, Wiltout RH. IFN- γ and Fas/FasL are required for the antitumor and antiangiogenic effects of IL-12/pulse IL-2 therapy. *J Clin Invest* 2001; 108: 51-62 [PMID: 11435457 DOI: 10.1172/JCI10128]
- 21 Furbert-Harris PM, Parish-Gause D, Hunter KA, Vaughn TR, Howland C, Okomo-Awich J, Forrest K, Laniyan I, Abdelnaby A, Oredipe OA. Activated eosinophils upregulate the metastasis suppressor molecule E-cadherin on prostate tumor cells. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003; 49: 1009-1016 [PMID: 14682382]
- 22 Leonard JP, Sherman ML, Fisher GL, Buchanan LJ, Larsen G, Atkins MB, Sosman JA, Dutcher JP, Vogelzang NJ, Ryan JL. Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon- γ production. *Blood* 1997; 90: 2541-2548 [PMID: 9326219]
- 23 Bramson JL, Graham FL, Gaudie J. The use of adenoviral vectors for gene therapy and gene transfer in vivo. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6: 590-595 [PMID: 7579670 DOI: 0958-1669(95)80097-2]
- 24 Yang Y, Nunes FA, Berencsi K, Furth EE, Gönczöl E, Wilson JM. Cellular immunity to viral antigens limits E1-deleted adenoviruses for gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 4407-4411 [PMID: 8183921 DOI: 10.1073/pnas.91.10.4407]
- 25 王从俊, 薛新波, 易继林, 陈堃, 郑建伟, 曾建平, 许荣华, 王炜煜, 吴在德. 腺病毒介导MDA-7/IL-24选择性杀伤肝癌细胞HepG2的研究. *中国普通外科杂志* 2006; 15: 849-854
- 26 Peron JM, Couderc B, Rochaix P, Douin-Echinard V, Asnacios A, Souque A, Voigt JJ, Buscail L, Vinel JP, Favre G. Treatment of murine hepatocel-

- lular carcinoma using genetically modified cells to express interleukin-12. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 388-396 [PMID: 15012775 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2003.03295.x]
- 27 Satoh T, Saika T, Ebara S, Kusaka N, Timme TL, Yang G, Wang J, Mouraviev V, Cao G, Fattah el MA, Thompson TC. Macrophages transduced with an adenoviral vector expressing interleukin 12 suppress tumor growth and metastasis in a preclinical metastatic prostate cancer model. *Cancer Res* 2003; 63: 7853-7860 [PMID: 14633713]
- 28 Wang L, Hernández-Alcoceba R, Shankar V, Zabala M, Kochanek S, Sangro B, Kramer MG, Prieto J, Qian C. Prolonged and inducible transgene expression in the liver using gutless adenovirus: a potential therapy for liver cancer. *Gastroenterology* 2004; 126: 278-289 [PMID: 14699506 DOI: S0016508503017670]
- 29 Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood* 2006; 108: 804-811 [PMID: 16861339 DOI: 10.1182/blood-2006-02-002774]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

糖尿病胃轻瘫临床疗效的评价方式

李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 全小林

■背景资料

目前对于糖尿病胃轻瘫的临床疗效评价主要是对胃排空的评估、患者对疾病严重度的主观评估以及从发病因素改善方面的评估,然而目前胃排空检查方法缺乏临床广泛适用性、患者主观评估缺乏统一标准、发病机制并不明确成为寻找糖尿病胃轻瘫有效的临床疗效评价所面临的主要问题。

李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 全小林, 中国中医科学院广安门医院内分泌科 北京市 100053

李君玲, 田佳星, 北京中医药大学 北京市 100029

李君玲, 主要从事糖尿病及其并发症的中医药防治。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173259

作者贡献分布: 本文综述主要由李君玲完成; 田佳星与逢冰参与了文献资料的查阅; 李敏与全小林负责审校。

通讯作者: 全小林, 主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院。julian1224@126.com

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-21

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-28

Methods for clinical evaluation of diabetic gastroparesis

Jun-Ling Li, Min Li, Jia-Xing Tian, Bing Pang, Xiao-Lin Tong

Jun-Ling Li, Min Li, Jia-Xing Tian, Bing Pang, Xiao-Lin Tong, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China

Jun-Ling Li, Jia-Xing Tian, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173259

Correspondence to: Xiao-Lin Tong, Chief Physician, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, 5 Beixiang, Xicheng District, Beijing 100053, China. julian1224@126.com

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-21

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-28

Abstract

An effective clinical assessment method is necessary for the development of new drugs. Currently, main methods for clinical evaluation of diabetic gastroparesis (DGP) include evaluation of gastric emptying, patients' subjective evaluation of disease severity and the change in pathogenic factors. However, there are many problems that need to address; the methods for the evaluation of gastric emptying have not been widely used, there is no uniform standard for the patients' subjective evaluation, and the pathogenic factors for DGP are not completely clear. In this article we will review the methods for clinical evaluation of DGP, with the emphasis on the above problems.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diabetes mellitus; Gastroparesis; Evaluation

Li JL, Li M, Tian JX, Pang B, Tong XL. Methods for clinical evaluation of diabetic gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3198-3203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3198.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3198>

摘要

新药的探索与研究离不开有效的临床疗效评价方法。目前对于糖尿病胃轻瘫的临床疗效评价主要是对胃排空的评估、患者对疾病严重度的主观评估以及从发病因素改善方面的评估,然而目前胃排空检查方法缺乏临床广泛适用性、患者主观评估缺乏统一标准、糖尿病胃轻瘫发病机制并不明确成为寻找糖尿病胃轻瘫有效的临床疗效评价所面临的主要问题。本文通过查阅国内外大量文献,对这些问题进行了综述、评定以及展望,以期对糖尿病胃轻瘫的临床实验研究有一定帮助。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 糖尿病; 胃轻瘫; 疗效评价

核心提示: 胃排空检查方法缺乏临床广泛适用性、患者主观评估缺乏统一标准、发病机制并不明确成为寻找糖尿病胃轻瘫有效的临床疗效评价所面临的主要问题。探求糖尿病胃轻瘫的根本发病机制从而寻找糖尿病胃轻瘫临床疗效评价方式具有广阔前景。

李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 全小林. 糖尿病胃轻瘫临床疗效的评价方式. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3198-3203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3198.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3198>

0 引言

糖尿病胃轻瘫是糖尿病患者的重要并发症之一,主要表现为排除机械性梗阻所致的胃排空延迟,临床以腹胀、恶心、呕吐、早饱、食欲减退等为主要症候群。对于糖尿病患者来说,胃轻瘫的发生不仅会降低患者的生活质量,更使血糖难

■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

于控制^[1-3], 极容易发生低血糖等危险状况. 然而目前为止, 对糖尿病胃轻瘫的治疗方式较为局限, 寻找有效的糖尿病胃轻瘫治疗方式一直是国内外学者研究的热点. 而目前为止, 国内外对于糖尿病胃轻瘫的临床疗效评价方法并无统一标准, 这在一定程度上限制了新型治疗方式的探索与应用研究. 本文基于以上背景, 通过查阅国内外相关文献, 对现今各学者探索糖尿病胃轻瘫治疗方式时所使用的疗效评价方式做一综述, 以期于临床实验有些许帮助.

1 胃排空评价

从胃轻瘫病名建立以来, 胃排空检查一直是其诊断和疗效评价的重要客观指标. 虽然目前胃排空检查的方法很多, 但是核素胃排空实验却是目前最为公认的观察胃排空的实验方法. 该试验通常采用双核素法分别标记液体和固体食物, 进餐后连续4 h每15 min用 γ 照相机或单光子发射式计算机断层仪(single-photon emission computed tomography, SPECT)进行闪烁扫描1次, 计算进餐不同时间的排空率^[4]. 由于该实验能对胃排空进行各个时间点的确切研究, 并且具有非侵入性、不干扰正常生理、可定量、重复性好等特点^[5], 因此成为目前实验研究中对胃排空评价的“金指标”. 但该方法时间长、方法复杂, 对于呕吐严重的重度胃轻瘫患者很难实施, 同时由于价格昂贵、具有放射性不良反应, 因此难以广泛应用于临床实验.

^{13}C 辛酸呼气试验是将 ^{13}C 与辛酸结合后作为标志物与食物混合制成试验餐, 患者摄入试验餐后, 每隔一定时间收集呼气样品, 通过采用 $^{13}\text{CO}_2$ 的排泄谱可估测胃的排空速率^[6,7]. 由于该实验无放射性, 容易被接受, 因此可较长时间观察胃排空改变. 同时该方法简捷, 可于床边、院外等地取样本. 然而由于该实验的实施需要一个代谢过程, 属于间接性计算胃排空, 因此对于肝脏有疾病的患者有限制性, 同时目前尚缺乏权威性的分析方法, 并且有研究报道该法对健康人及轻度胃排空异常患者的诊断准确率较高, 但对重度胃排空异常的病例缺乏可靠性^[8].

超声检测法测量胃排空是目前较为推行的检查方法, 相对于核素胃排空实验来说, 该法具有价格便宜、无放射性、灵活性高, 可进行床旁检测的优点. 目前最为广泛用于临床的是胃窦单切面积法. 该法可分别测定并计算空腹和充盈后即刻胃窦切面面积、胃窦收缩频

率、胃窦收缩幅度及胃窦运动指数和胃排空时间(gastric emptying time, GET)^[9]. 同时可描绘胃排空-时间曲线, 计算出胃半排空时间($\text{GET}_{1/2}$). 三维超声的发展通过对实验餐的胃内分布及胃体积的评估为胃的病理变化提供了更多信息^[10]. 多项研究^[11,12]通过与核素胃排空实验结果相比较显示三维超声可以对液体胃排空进行准确可靠的评定. 但值得注意的是, 超声也有一定局限性: 该实验对肥胖或胃窦位于胸廓内的患者检测较为困难, 因此对于2型糖尿病胃轻瘫患者的诊断具有局限性, 并且超声测定胃排空的准确性也与操作技师的熟练程度有关.

X线检查是通过服用含不透X线标志物的试验餐, 再测定该试验餐在胃内的排空来观察胃的张力、位置、蠕动及胃排空等情况. 与核素胃排空实验相比具有简单易行、成本低的特点. 但是, 该方法也有其局限性: 由于不能精确测定胃内残留量, 胃排空测定的准确性受到限制. 有研究显示X线检查法测量的正常胃排空并不能排除由核素胃排空实验测量的胃排空延迟, 同时其测量结果并不与胃肠道症状具有相关性^[13].

磁共振检测法通过摄入顺磁性MRI造影剂钆-铬合物化合物(Gd-DOTA), 用MRI进行多层横断面扫描, 随着 Gd-DOTA 和食物一起从胃内排出, MRI显示的胃主体影像发生一系列变化, 从而获得胃排空结果^[14]. 该方法不仅可对胃排空进行测定, 还可以对胃的收缩和运动进行较长时间的观察, 且没有放射性和侵入性. 但同时该法检测费用高、需较长解析图像时间且数据处理缺乏标准化, 因此目前在临床也未得到广泛应用.

总之, 可看出目前对胃排空测定的方法虽多, 但能够广泛适用于临床实验的方法却很少, 继续寻找准确、简便、廉价的检查方法是进行新药探索的必经之路.

2 主观评价

患者自我认为的症状严重程度以及生活质量是直接反应患者所经历的疾病严重度的指标. 临床医师也多根据患者陈述来评估患者的胃肠功能紊乱情况以及治疗的有效性. 多数学者认为症状的严重程度以及与症状相关的生活质量指数结果对于治疗胃轻瘫效果的非常重要的评估方式^[15-18], 因此寻找一种统一的症状及生活质量评价方式对于研究糖尿病胃轻瘫的治疗意

■研发前沿

核素胃排空实验是目前公认的观察胃排空的实验方法. 但该方法时间长、过程复杂、价格昂贵、具有放射性不良反应, 难以广泛应用于临床实验. 寻找准确实用的糖尿病胃轻瘫临床疗效评价方法亟待解决.

■相关报道

Revicki等专门针对胃轻瘫, 基于医学文献、临床医生访谈等发明了胃轻瘫症状严重指数表。

义重大。

2.1 症状评分 对于患者症状改善度的评价, 目前没有统一标准。多数研究者选择糖尿病胃轻瘫的主要临床表现如恶心、呕吐、腹胀、早饱以及上腹痛等作为主要症状指标^[19-22], 而评分标准则各不相同, 有以无、轻、中、重分别评以1、2、3、4分^[19], 亦有根据对工作生活影响度而进行评分的5分制(0 = 无症状, 1 = 轻微, 不影响正常活动, 2 = 中等, 影响正常活动但不需要调整生活方式, 3 = 严重, 影响正常活动, 要求调整生活方式, 4 = 极严重, 需要卧床休息)^[20]。然而症状评分的不一致性对于广泛比较药物的有效性具有局限性, 因此寻找一种统一的糖尿病胃轻瘫症状评分量表是非常有意义的。Quan等^[23]选取美国一张被确认为有效性的消化道评分表中^[24]的26种消化系症状, 加上糖尿病患者所具有的特点如糖尿病类型、糖尿病各并发症等而制成的糖尿病肠道症状量表是对糖尿病患者消化系症状以及血糖控制情况的一项重要评价方式。Revicki等^[25,26]则专门针对胃轻瘫, 基于医学文献、临床医生访谈等发明了胃轻瘫症状严重指数表(gastroparesis cardinal symptom index, GCSI), 该表由3个子量表(餐后腹胀/早饱、恶心呕吐、腹胀)、9条常见的胃轻瘫症状组成, 患者被要求根据自己的经历将症状分为无、非常轻微、轻微、中等、严重、非常严重6级水平, 分别评以0、1、2、3、4、5分, 每个子量表的总分为该表条目的平均分, 胃轻瘫总分则为3个子量表平均分, 若其中一个子量表分数丢失, 胃轻瘫总分数将丢失, 分数越高则表示胃轻瘫越严重。Revicki等通过与SF-36健康调查表总分数、卧床天数等进行相关性分析, 证实该表对于衡量胃轻瘫症状严重度具有可靠性, 遗憾的是该表并未与胃排空进行相关性分析。GCSI-DD^[27]是Revicki根据GCSI修订的用于患者记录每天症状变化的量表, 该表使临床医生能够了解到患者每天的症状变化。然而, 目前仍缺乏专门针对糖尿病胃轻瘫的评分量表, 因此针对糖尿病胃轻瘫的研究, 无论使用哪种量表都缺乏一定的针对及说服力。

2.2 其他 药物治疗的目的在于提高患者的生活质量, 提高生存工作能力。Cherian等^[28]研究结果显示恶心、呕吐症状与生活质量下降具有密切相关性, 并且认为每天恶心时间与每周呕吐频率是对胃轻瘫症状严重度的重要评价指标。因此, 一些对重度糖尿病胃轻瘫治疗方式的疗效

评价中将周呕吐频率作为主要疗效评价指标^[29]。此外住院卧床时间亦是一些重度胃轻瘫疗效评价的重要指标^[30]。

对患者生活质量改善的评估是评价药物治疗有效性的重要标准。许多关于糖尿病胃轻瘫的临床实验均将SF-36健康调查简表作为重要的疗效评价指标^[1,31]。SF-36健康调查简表^[32]是在Stewart等研制的医疗结局研究量表(medical outcomes study-short form, MOS SF)的基础上, 由美国波士顿健康研究发展而来的, 被广泛应用于临床实践研究、健康政策评价以及人口普查等, 该表由36条问题组成, 对14岁以上的患者进行了由健康状况或心理因素所带来的工作、社会、生活等不便的评估, 临床试验中研究者多将此评估作为衡量药物对于治疗疾病有效性的重要参考标准。

3 发病因素疗效评价

虽然目前糖尿病胃轻瘫发病具体机制并不明确, 但已明确证实糖尿病胃轻瘫的发生与胃电紊乱、胃肠激素异常、自主神经病变等有密切联系^[33-37]。在临床实验研究中, 通过观察治疗方式对这些异常因素的调节作用亦是一种有效的疗效评价方法。

胃电图是目前对胃电活动检测的最常用的方法, 该法将电极置于腹部皮肤, 通过相关装置可记录胃电活动。由于该法属非侵入性方法, 又是在生理状态下描记的, 因此受到众多学者关注^[38]。糖尿病胃轻瘫的发生与ICC细胞的缺失有关^[39], 而ICC细胞具有引发胃内慢波的作用^[33], 慢波决定了胃电的传输方向、频率, 与胃窦的低幅收缩相联系^[38], 因此很多研究将改善胃轻瘫患者的慢波活动作为一项重要的疗效评价方法^[20,40]。

自主神经病变被认为是糖尿病胃轻瘫发病的病理基础, 然而目前尚缺乏对自主神经病变评定的临床客观检查方法。Selim等^[41]通过胃黏膜活检对胃黏膜神经密度进行测量发现糖尿病胃轻瘫患者胃黏膜神经密度明显低于对照组, 并以此认为胃黏膜活检检测神经密度是一种安全、实用的诊断胃轻瘫的重要形态学依据。该实验无疑对临床实验研究提供了一项新的疗效评价方式。

血浆激素检测亦是一项较为简便、廉价实用的检查方法, 目前国内很多实验研究将其作为疗效评价方式^[42-44], 但是值得注意的是糖尿病

胃轻瘫患者血浆激素水平较正常组的改变并不呈一致性^[45], 因此以血浆激素水平作为有效的疗效评价方式尚待讨论。

4 结论

虽然目前国内外大多数实验均将胃排空评价与患者主观症状评价共同作为治疗方式的疗效评价方法, 但是值得注意的是多项研究结果显示症状改善与胃排空改变并不呈明显相关性^[46,47], 症状明显改善的患者可能胃排空结果并没有明显改变。同时对于糖尿病胃轻瘫患者尤其是重度糖尿病胃轻瘫患者来说, 目前所具有的各种胃排空检查方法均具有局限性, 因此有些研究^[48-50]仅将患者对疾病严重度的主观评价作为疗效评价指标。然而虽然患者的主观症状评价是反应症状严重度的直接指标, 但是容易受多种因素干扰, 不能全面客观的反应疾病的变化, 因此在临床实验研究中仍需寻找一些客观评价指标。

从改变糖尿病胃轻瘫发病因素角度来评价糖尿病胃轻瘫的治疗效果具有简单易行、权威性高的优点, 因此具有广阔前景。但是糖尿病胃轻瘫发病机制的不明确性又极大限制了该评价方法的应用, 因此积极研究糖尿病胃轻瘫发病机制并从发病机制方面探索相关的疗效评价方法是临床研究者所需要解决的问题。在糖尿病胃轻瘫的临床研究中结合患者的主观评估和发病因素的客观改善将是对治疗方式的有效疗效评估方法。

5 参考文献

- 1 Talley NJ, Young L, Bytzer P, Hammer J, Leemon M, Jones M, Horowitz M. Impact of chronic gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus on health-related quality of life. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 71-76 [PMID: 11197290 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03350.x]
- 2 Schwartz JG, Guan D, Green GM, Phillips WT. Treatment with an oral proteinase inhibitor slows gastric emptying and acutely reduces glucose and insulin levels after a liquid meal in type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1994; 17: 255-262 [PMID: 8026279 DOI: 10.2337/diacare.17.4.255]
- 3 Ishii M, Nakamura T, Kasai F, Onuma T, Baba T, Takebe K. Altered postprandial insulin requirement in IDDM patients with gastroparesis. *Diabetes Care* 1994; 17: 901-903 [PMID: 7956640 DOI: 10.2337/diacare.17.8.901]
- 4 Jones KL, Russo A, Stevens JE, Wishart JM, Berry MK, Horowitz M. Predictors of delayed gastric emptying in diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1264-1269 [PMID: 11423513 DOI: 10.2337/diacare.24.7.1264]
- 5 陈文柳, 戴益琛, 戴禄寿. 功能性消化不良胃镜下胃动力分型研究. *中国内镜杂志* 2000; 6: 64-65
- 6 Zahn A, Langhans CD, Hoffner S, Haberkorn U, Rating D, Haass M, Enck P, Stremmel W, Rühl A. Measurement of gastric emptying by 13C-octanoic acid breath test versus scintigraphy in diabetics. *Z Gastroenterol* 2003; 41: 383-390 [PMID: 12772050 DOI: 10.1055/s-2003-39331]
- 7 张瑾, 王俊平. 13C-辛酸呼气试验对肝硬化患者胃排空功能的评价. *中国药物与临床* 2008; 8: 315-316
- 8 黄晓璐, 曲新华. 13C呼气试验检测胃排空的原理及其结果分析. *胃肠病学* 2009; 14: 193-196
- 9 李彤, 宋加友, 何伟, 张彤彦, 许媛. 改良B超胃窦单切面法对重症患者胃排空功能判断的价值. *外科理论与实践* 2009; 14: 619-620
- 10 Tefera S, Gilja OH, Olafsdottir E, Hausken T, Hatlebakk JG, Berstad A. Intragastric maldistribution of a liquid meal in patients with reflux oesophagitis assessed by three dimensional ultrasonography. *Gut* 2002; 50: 153-158 [PMID: 11788552 DOI: 10.1136/GUT.50.2.153]
- 11 Gentilecore D, Hausken T, Horowitz M, Jones KL. Measurements of gastric emptying of low- and high-nutrient liquids using 3D ultrasonography and scintigraphy in healthy subjects. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 1062-1068 [PMID: 17109689 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00830.x]
- 12 Stevens JE, Gilja OH, Gentilecore D, Hausken T, Horowitz M, Jones KL. Measurement of gastric emptying of a high-nutrient liquid by 3D ultrasonography in diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 220-225, e113-e114 [PMID: 21087356 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01630.x]
- 13 Olausson EA, Brock C, Drewes AM, Grundin H, Isaksson M, Stotzer P, Abrahamsson H, Attvall S, Simrén M. Measurement of gastric emptying by radiopaque markers in patients with diabetes: correlation with scintigraphy and upper gastrointestinal symptoms. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e224-e232 [PMID: 23316944 DOI: 10.1111/nmo.12075]
- 14 de Zwart IM, de Roos A. MRI for the evaluation of gastric physiology. *Eur Radiol* 2010; 20: 2609-2616 [PMID: 20585784 DOI: 10.1007/s00330-010-1850-3]
- 15 Leidy NK, Farup C, Rentz AM, Ganoczy D, Koch KL. Patient-based assessment in dyspepsia: development and validation of Dyspepsia Symptom Severity Index (DSSI). *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1172-1179 [PMID: 10877234]
- 16 Moyer CA, Fendrick AM. Measuring health-related quality of life in patients with upper gastrointestinal disease. *Dig Dis* 1998; 16: 315-324 [PMID: 9892791 DOI: 10.1159/000016881]
- 17 Rabeneck L, Cook KF, Wristers K, Soucek J, Menke T, Wray NP. SODA (severity of dyspepsia assessment): a new effective outcome measure for dyspepsia-related health. *J Clin Epidemiol* 2001; 54: 755-765 [PMID: 11470383 DOI: 10.1016/S0895-4356(00)00365-6]
- 18 Rentz AM, Battista C, Trudeau E, Jones R, Robinson P, Sloan S, Mathur S, Frank L, Revicki DA. Symptom and health-related quality-of-life measures for use in selected gastrointestinal disease studies: a review and synthesis of the literature. *Pharmacoeconomics* 2001; 19: 349-363 [PMID: 11383752 DOI: 10.2165/00019053-200119040-00003]
- 19 Silvers D, Kipnes M, Broadstone V, Patterson D, Quigley EM, McCallum R, Leidy NK, Farup C, Liu

■创新盘点

本文总结了目前国内外糖尿病胃轻瘫临床研究中所使用的疗效评价方法, 并对各评价方法进行了综述。

■同行评价

本文综述了当前国内外学者探索糖尿病胃轻瘫治疗方式时所使用的疗效评价方式,对于临床研究治疗糖尿病胃轻瘫的有效方法时具有实际应用价值。

- Y, Joslyn A. Domperidone in the management of symptoms of diabetic gastroparesis: efficacy, tolerability, and quality-of-life outcomes in a multicenter controlled trial. DOM-USA-5 Study Group. *Clin Ther* 1998; 20: 438-453 [PMID: 9663360]
- 20 Lin Z, Sarosiek I, Forster J, Ross RA, Chen JD, McCallum RW. Two-channel gastric pacing in patients with diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 912-e396 [PMID: 21806741 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01754.x]
- 21 齐学林, 杨亚锋, 黄晓红. 一贯煎联合西药治疗胃阴亏虚型糖尿病胃轻瘫患者40例临床观察. *中医杂志* 2012; 53: 1566-1569
- 22 郭庆捷, 张娟, 张艳, 曹泽伟. 和胃方治疗糖尿病胃轻瘫临床对照研究. *实用中医药杂志* 2012; 28: 817-819
- 23 Quan C, Talley NJ, Cross S, Jones M, Hammer J, Giles N, Horowitz M. Development and validation of the Diabetes Bowel Symptom Questionnaire. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1179-1187 [PMID: 12752355 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01553.x]
- 24 Talley NJ, Phillips SF, Melton J, Wiltgen C, Zinsmeister AR. A patient questionnaire to identify bowel disease. *Ann Intern Med* 1989; 111: 671-674 [PMID: 2679285 DOI: 10.7326/0003-4819-111-8-671]
- 25 Revicki DA, Rentz AM, Dubois D, Kahrilas P, Stanghellini V, Talley NJ, Tack J. Development and validation of a patient-assessed gastroparesis symptom severity measure: the Gastroparesis Cardinal Symptom Index. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 141-150 [PMID: 12848636 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01612.x]
- 26 Revicki DA, Rentz AM, Dubois D, Kahrilas P, Stanghellini V, Talley NJ, Tack J. Gastroparesis Cardinal Symptom Index (GCSI): development and validation of a patient reported assessment of severity of gastroparesis symptoms. *Qual Life Res* 2004; 13: 833-844 [PMID: 15129893]
- 27 Revicki DA, Camilleri M, Kuo B, Norton NJ, Murray L, Palsgrove A, Parkman HP. Development and content validity of a gastroparesis cardinal symptom index daily diary. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 670-680 [PMID: 19558608 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04078.x]
- 28 Cherian D, Parkman HP. Nausea and vomiting in diabetic and idiopathic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 217-222, e103 [PMID: 22118574 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01828.x]
- 29 McCallum RW, Snape W, Brody F, Wo J, Parkman HP, Nowak T. Gastric electrical stimulation with Enterra therapy improves symptoms from diabetic gastroparesis in a prospective study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 947-954; quiz e116 [PMID: 20538073 DOI: 10.1016/j.jcgh.2010.05.020]
- 30 Sharma D, Morrison G, Joseph F, Purewal TS, Weston PJ. The role of continuous subcutaneous insulin infusion therapy in patients with diabetic gastroparesis. *Diabetologia* 2011; 54: 2768-2770 [PMID: 21842427 DOI: 10.1007/s00125-011-2282-6]
- 31 Johnson CJ. Cognitive components of naming in children: effects of referential uncertainty and stimulus realism. *J Exp Child Psychol* 1992; 53: 24-44 [PMID: 1545189 DOI: 10.2337/diacare.27.10.2341]
- 32 Ware JE Jr, Snow KK, Kosinski M, Gandek B. SF-36 Health Survey: Manual and Interpretation Guide. Boston, Massachusetts: The Health Institute, New England Medical Center, 1993
- 33 Thazhath SS, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK. Diabetic gastroparesis: recent insights into pathophysiology and implications for management. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 127-139 [PMID: 23363262 DOI: 10.1586/egh.12.82]
- 34 刘云, 孙岩, 薛筠萍, 李建民. 糖尿病胃轻瘫的诊断及发病机制. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 290-293
- 35 吴波, 杜强, 郑长青, 李倩. 胃泌素和生长抑素在糖尿病胃轻瘫中作用的研究. *中国医科大学学报* 2009; 38: 783-785
- 36 吴慧萍, 陆红. 糖尿病胃轻瘫患者血清生长抑素改变及意义. *实用诊断与治疗杂志* 2006; 20: 330-332
- 37 黄颖秋, 王昕, 刘丽, 李骥. II型糖尿病胃轻瘫患者血清NO含量与体表动态胃电变化规律研究. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 1177-1178
- 38 Yin J, Chen JD. Electrogastrography: methodology, validation and applications. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 5-17 [PMID: 23350042 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.5]
- 39 宁月季, 张蔚, 林琳. Cajal间质细胞与糖尿病胃轻瘫的关系. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 90-92
- 40 骆天炯, 徐小萍, 孙丽霞, 胡刚, 徐陆周, 赵乐天, 周斌, 章金春, 王雁君, 贾晓峰. 青陈合剂对脾虚气滞型糖尿病胃轻瘫患者血浆胃动素及体表胃电图的影响. *中医杂志* 2009; 50: 130-132
- 41 Selim MM, Wendelschafer-Crabb G, Redmon JB, Khoruts A, Hodges JS, Koch K, Walk D, Kennedy WR. Gastric mucosal nerve density: a biomarker for diabetic autonomic neuropathy? *Neurology* 2010; 75: 973-981 [PMID: 20837965 DOI: 10.1212/wnl.0b013e3181f25f19]
- 42 Chen L, Zhang XF, Ku BQ, Wang XC, Ma C, Liang JY, Liu J. [Effects of acupoint injection of autologous blood on symptoms and plasma motilin and gastrin levels of diabetic gastroparesis patients]. *Zhen Ci Yan Jiu* 2012; 37: 229-232, 246 [PMID: 22934395]
- 43 陈茜, 黎耀东, 李凯利. 糖胃贴敷方对糖尿病胃轻瘫患者胃肠激素影响的临床研究. *中成药* 2011; 33: 208-211
- 44 戎士玲, 李佃贵, 范红梅, 郑燕. 凉润通络中药对糖尿病胃轻瘫患者血清胃泌素及体表胃电图的影响. *中国中西医结合杂志* 2004; 24: 976-978
- 45 吴波, 郑长青. 幽门螺杆菌、胃肠激素与糖尿病胃轻瘫的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1616-1619
- 46 Abell TL, Van Cutsem E, Abrahamsson H, Huizinga JD, Konturek JW, Galmiche JP, Voeller G, Filez L, Everts B, Waterfall WE, Domschke W, Bruley des Varannes S, Familoni BO, Bourgeois IM, Janssens J, Tougas G. Gastric electrical stimulation in intractable symptomatic gastroparesis. *Digestion* 2002; 66: 204-212 [PMID: 12592096 DOI: 10.1159/000068359]
- 47 Ejksjaer N, Wo JM, Esfandiyari T, Mazen Jamal M, Dimcevski G, Tarnow L, Malik RA, Hellström PM, Mondou E, Quinn J, Rousseau F, McCallum RW. A phase 2a, randomized, double-blind 28-day study of TZP-102 a ghrelin receptor agonist for diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e140-e150 [PMID: 23279217 DOI: 10.1111/nmo.12064]
- 48 Ejksjaer N, Dimcevski G, Wo J, Hellström PM, Gormsen LC, Sarosiek I, Søfteland E, Nowak T, Pezzullo JC, Shaughnessy L, Kosutic G, McCallum R. Safety and efficacy of ghrelin agonist TZP-101 in relieving symptoms in patients with diabetic gastroparesis: a randomized, placebo-controlled study. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 1069-e281 [PMID: 20524987 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01519.x]
- 49 McCallum RW, Lembo A, Esfandiyari T, Bhandari BR, Ejksjaer N, Cosentino C, Helton N, Mondou

E, Quinn J, Rousseau F; The TZP-102 Phase 2b Study Group. Phase 2b, randomized, double-blind 12-week studies of TZP-102, a ghrelin receptor ago-

nist for diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e705-e717 [PMID: 23848826 DOI: 10.1111/nmo.12184.]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

上皮间质转化相关的生物标志在胃癌中的研究进展

庄铭锴, 陈丰霖

■背景资料

大多数肿瘤来源于上皮组织, 上皮间质转化是上皮细胞转化成间充质样细胞并伴随明显基因和表型改变的一种多阶段过程, 其可赋予上皮源性肿瘤细胞侵袭和转移的能力, 是促使肿瘤发生转移的重要机制之一。

庄铭锴, 福建医科大学协和临床医学院 福建省福州市 350001

陈丰霖, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001

庄铭锴, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

福建省2012年临床医学重点专科基金资助项目, No. 闽卫科教[2012]149号

福建省财政厅专项基金资助项目, No. 2012B013

作者贡献分布: 本文综述由庄铭锴完成; 陈丰霖负责审校。

通讯作者: 陈丰霖, 副教授, 主任医师, 350001, 福建省福州市新权路29号, 福建医科大学附属协和医院消化内科。

drchenfl@163.com

电话: 0591-83357896-8482

收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-28

Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer

Ming-Kai Zhuang, Feng-Lin Chen

Ming-Kai Zhuang, Union Clinical Medicine College of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Feng-Lin Chen, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Supported by: the Key Clinical Specialty Discipline Construction Program of Fujian Province, Min Wei Ke Jiao No. 2010-149; and the Special Fund of Finance Department of Fujian Province, No. 2012B013

Correspondence to: Feng-Lin Chen, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Fujian Medical University, 29 Xinquan Road, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. drchenfl@163.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-28

Abstract

In gastric cancer, metastases are the major cause of death. Understanding the mechanism by which tumor cells invade and metastasize is essential to develop novel treatments for gastric cancer (GC). Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a multistage process in which epithelial cells develop into mesenchymal-like cells with a large number of distinct genetic and epigenetic alterations. EMT also occurs in cancer, which endows invasive and metastatic properties upon cancer cells that favor successful colonization of distal target organs. Here, we summarize stud-

ies of known EMT biomarkers in the context of GC progression. The biomarkers discussed include cell-surface proteins (E-cadherin and N-cadherin), cytoskeletal proteins (β -catenin and Vimentin), and transcription factors (Snail, Twist, ZEB1 and ZEB2).

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-mesenchymal transition; Biological markers; Neoplasm metastases; Stomach neoplasms

Zhuang MK, Chen FL. Biomarkers of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3204-3210 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3204>

摘要

转移是胃癌的主要死因。研究胃癌的转移机制, 能为未来发展治疗胃癌的新手段提供必要的理论基础。上皮间质转化是上皮细胞转化成间充质样细胞并伴随明显基因和表型改变的一种多阶段过程, 这种转化亦可在肿瘤细胞中发生, 其会赋予肿瘤细胞侵袭和转移能力, 使其更易形成远处转移灶, 故上皮间质转化是肿瘤发生转移的重要机制之一。本文综述了近年来上皮间质转化的相关生物标志物, 包括细胞表面蛋白(E-cadherin、N-cadherin)、细胞骨架蛋白(β -catenin、Vimentin)、转录因子(Snail、Twist、ZEB1、ZEB2)等在胃癌中的研究进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 上皮间质转化; 生物标记; 肿瘤转移; 胃癌

核心提示: 本文所提及的主要是判断体外上皮间质转化的经典表型分子, 但这些生物标志物在判断体内上皮间质转化的发生上具有一定的局限性, 仍需寻找更好的标志物或方法来鉴定体内肿瘤是否发生上皮间质转化, 进一步探讨其在胃癌发生、发展中的作用。

■同行评议者

杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

庄铭镒, 陈丰霖. 上皮间质转化相关的生物标志在胃癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3204-3210 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3204>

0 引言

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 尽管近年来其发病率呈下降趋势, 但全球每年仍有超过70万的人死于胃癌^[1]. 由于胃癌本身的特点及临床诊断手段的限制, 大多数胃癌患者临床确诊时已处于中晚期, 此时即使经过合理的综合治疗, 患者的平均生存期及5年生存率仍只有24 mo及20%-25%^[2]. 但原发灶并不是胃癌患者的主要死因, 肿瘤转移才是导致胃癌患者死亡的主要原因^[3].

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞在某些因素的刺激下转化成间充质样细胞并伴随明显基因和表型改变的一种多阶段过程. EMT最早是在生物体胚胎发育过程中得到证实的, 其参与了胚胎发育过程中新组织类型的生成, 是一种进化上高度保守的重要机制. 后来人们在肿瘤转移研究中发现, 转移性肿瘤细胞在保持一定上皮细胞特性的同时可获得某些间充质表型, 如细胞间的连接减少或消失, 细胞极性丧失, 角蛋白被波形蛋白取代等, 而伴随着这些改变, 肿瘤细胞也获得了侵袭和转移的能力, 因此人们认为EMT可能是肿瘤侵袭转移的重要机制之一^[4]. 肿瘤细胞发生EMT时, 除了在细胞形态、细胞极性、迁移侵袭能力等形态学和生物学行为会出现变化外, 还有一些生物标志物如细胞膜表面蛋白、细胞骨架蛋白、细胞外基质蛋白以及某些转录因子的表达和/或功能会出现改变. 故本文就近年来关于EMT相关的生物标志在胃癌中的研究进展作一综述.

1 细胞膜表面蛋白

目前研究较多的EMT相关的细胞表面蛋白主要是钙粘蛋白(cadherins, cads), 特别是上皮型钙粘蛋白(E-cadherin, E-cad)和神经型钙粘蛋白(N-cadherin, N-cad).

1.1 E-cad E-cad是一种Ca²⁺依赖的、与细胞间黏附密切相关的跨膜糖蛋白, 主要分布于上皮细胞的膜表面, 其胞外部分可在Ca²⁺的介导下与另一同型上皮细胞的相应部分相互作用形成二聚体, 而胞内部分可与连环蛋白(catenin, ctn), 如

α 、 β 、 γ 、P120-ctn相互作用组成E-cad/ctn复合体, 该复合体可与细胞骨架肌动蛋白相连, 形成完整的上皮细胞间的黏附连接(adheren junction, AJ). AJ中任一组成成分的表达或功能异常时, 都会影响该结构的稳定性, 使上皮细胞间的黏附减弱. 研究发现在上皮型肿瘤的恶性进展过程中, E-cad的表达会出现下调, 甚至是完全丢失, 这会导致肿瘤细胞间的黏附减弱, 使其从良性、非侵袭性向恶性、侵袭性表型转化^[5].

E-cad在胃癌中的表达也有类似的改变, 且发现至少有三种机制参与了这一调控过程: (1) 基因的突变, Becker等^[6]首次在不同类型的胃癌样本(肠型、弥漫型、混合型)中发现了E-cad的基因突变, 提出了E-cad的突变可能是导致弥漫型胃癌发生的分子机制之一; 随后Guilford等^[7]在家族性弥漫型胃癌中发现E-cad基因的胚系突变, 且证实了该突变是造成此病发生的主要原因; (2) 启动子甲基化, Machado等^[8]通过基因分析发现了弥漫型胃癌中存在着E-cad启动子区域甲基化程度的升高; Chan等^[9]亦发现, 在胃癌经典发展过程“Correa's cascade”中(即正常黏膜-慢性活动性胃炎-慢性萎缩性胃炎-肠上皮化生-不典型增生-原位癌), E-cad的表达是逐步下降的, 而且E-cad基因的甲基化频率也是逐步升高的, 更重要的是研究还发现幽门螺旋杆菌感染也参与了E-cad基因的甲基化过程, 这些都提示了在胃癌中, 基因甲基化是调节E-cad活性的重要机制. 而“两次打击”学说(基因突变、启动子甲基化分别为第一、二次打击)也是目前解释遗传性弥漫型胃癌发生机制的主要学说; (3) 转录抑制, Rosivatz等^[10]在人胃癌临床样本的研究中发现, E-cad的表达下调与转录因子Snail、Twist、SIP1的表达上调是密切相关的, 而Wang等^[11]在E-cad表达阴性的SV40病毒转化的永生化胃上皮细胞株Ges-1和人胃癌细胞株MGC-803、BGC-823、SGC-7901中亦发现了Snail、Twist、Slug等转录因子的高表达, 这些转录因子能与E-cad基因启动子序列上的E-box元件相结合, 抑制E-cad基因的转录; (4) 其他, 如microRNAs(miR)也是调控胃癌中E-cad表达的机制之一^[12], 目前已发现miR-200B能以转录抑制因子ZEB2为靶点来调控胃癌中E-cad的表达^[13], 另外在肠型胃癌中亦发现了miR-101的表达是下调的, 且这与E-cad的功能异常是相关的^[14]. 除了调节细胞间的黏附外, E-cad还可通过影响细胞内的信号传导来影响细胞的生物学行为. 如

■ 研发前沿

目前大多数关于上皮间质转化与肿瘤的研究仍局限在侵袭转移方面, 但最新研究表明其还能增强肿瘤细胞抗凋亡、抗衰老、逃避免疫监视等的能力, 尤其是其可能在肿瘤干细胞的生成和维持过程中扮演着十分重要的角色.

■相关报道

由于体内发生侵袭转移的肿瘤细胞只占原发肿瘤的很小一部分,当他们发生上皮间质转化时的一些基因、转录、蛋白水平的改变往往为原发肿瘤所掩盖,而且肿瘤细胞除了可以发生上皮间质转化外,还可发生间质上皮转化,两者的发生是一个动态、连续、可逆的过程,并受到肿瘤微环境的影响,因此如何确认和捕捉发生上皮间质转化的肿瘤细胞是一个难题,新的显像技术和细胞标记方法为上述问题的解决带来了希望。

β -ctn, 其除了作为连接cadherins和细胞骨架肌动蛋白的接头蛋白外,还可作为TCF/LEF的转录共激活因子参与Wnt通路的信号转导,虽然E-cad在正常情况下可以募集 β -ctn至细胞间连接处,抑制 β -ctn的核转移及其介导的靶基因转录,但是E-cad的表达缺失却不一定能促进 β -ctn的核转移,因为Wnt通路的负调控因子[糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、腺瘤性结肠息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、axin等]可促进胞浆内多余的 β -ctn降解,进而抑制 β -ctn的核转移和转录功能的发挥。因此只有当E-cad表达下调和上述负调控因子功能异常时, β -ctn才能转移至核内,发挥其转录活性^[15]。研究亦发现在遗传性弥漫性胃癌中,E-cad胞外结构域的错义突变会使得E-cad与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)相互作用,导致EGFR的异常活化,而活化的EGFR可通过激活其下游信号分子RhoA来促进肿瘤细胞的运动能力^[16]。另外E-cad也可通过调控基质金属蛋白酶的表达来影响胃癌的侵袭转移^[17]。总的来说在胃癌中E-cad是一种肿瘤转移抑制因子。

1.2 N-cad 在EMT中除了E-cad的表达下调外,还常伴有其他cads的表达上调,而这种cads的转换在肿瘤中也有发现^[18]。而在上调表达的cad中最常见的便是N-cad。N-cad在正常情况下主要分布在神经、间质组织中,当其在上皮细胞中表达时,能明显促进细胞的运动能力,且这一作用是不受E-cad影响的^[19]。而N-cad的这一功能在肿瘤细胞中也得到了证实。Hazan等^[20]发现N-cad的转染表达可使非转移性人乳腺癌细胞株MCF-7获得侵袭能力,当将这种细胞注射入裸鼠乳腺脂肪垫中,MCF-7细胞转移至多器官和组织,而对照组的MCF-7细胞并不会发生转移。一般来说N-cad在肿瘤细胞中的表达升高提示着肿瘤具有转移表型,但在Kamikihara等^[21]关于N-cad在胃癌中表达的临床意义研究中发现,N-cad与胃癌的组织学分型、侵袭深度、淋巴结转移并无明显相关,其在胃癌患者中的阳性表达提示着不良预后。而在病毒转化的永生性胃上皮细胞株和多种胃癌细胞株都检测到了E-cad的阴性表达和N-cad的阳性表达,这提示了N-cad在胃癌的演变过程中可能起到了重要的作用^[11]。近年来在N-cad的表达调控研究中,Maeda等^[22]发现TGF- β 可在转录水平调控乳腺上皮细胞中N-cad的表达;Yang等^[23]在胃癌中亦

发现Twist是N-cadherin的正性调控因子,随后Hao等^[24]在黑色素瘤中证实了磷脂酰肌醇3-激酶/第10号染色体丢失的与张力蛋白同源的磷酸酶基因(phosphatidylinositol 3-kinase/phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PI3K/PTEN)是N-cad的上游调控通路之一,PTEN的表达可通过抑制PI3K/Akt(protein kinase B),即蛋白激酶B信号通路的活化来抑制Twist的表达,并以此来介导N-cad表达下调的发生;另外Shintani等^[25]发现I型胶原对胰腺癌细胞的促转移作用是通过激活c-jun氨基端激酶-1(c-Jun NH2-terminal kinase 1, JNK1)对N-cad的上调表达来实现的;而在microRNA方面,Gao等^[26]发现在胃癌中miR-145可以直接调控N-cad的表达,当上调miR-145时可以抑制N-cad的表达,而下调miR-145时又可导致N-cad的表达上调。虽然属于同一黏附分子家族,但N-cad调控肿瘤细胞迁移、侵袭的机制与E-cad却是不尽相同的。研究发现N-cad主要是通过纤维生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)相互作用来促进肿瘤细胞侵袭的,因为N-cad可抑制FGFR的降解,使细胞膜上持续表达FGFR,导致其下游调节激酶-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase-extra-cellular signal regulated kinase, MAPK-ERK)信号通路的持续激活和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的持续表达^[27];除此外,在乳腺癌小鼠乳腺癌病毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)-PyMT转基因小鼠的研究中还发现,N-cad可分别通过激活ERK通路和Akt3通路来促进肿瘤的侵袭和迁移^[28]。除了调节肿瘤细胞的侵袭外,N-cad还可通过促进肿瘤细胞与内皮细胞的相互作用来诱导肿瘤的转移,因为内皮细胞中也表达有N-cad,研究发现N-cad过表达的肿瘤细胞更容易黏附于血管内皮细胞,这可能为肿瘤细胞成功进入循环系统提供一定的条件^[20]。另外N-cad还可能通过与E-cad竞争性结合p120-ctn,促进E-cad的内化降解,减弱E-cad的肿瘤转移抑制作用^[29]。

2 细胞骨架蛋白

目前已知的EMT相关的细胞骨架蛋白标志物主要是 β -连环蛋白(β -catenin, β -ctn)和波形蛋白(Vimentin)。

2.1 β -ctn 在正常细胞和良性非侵袭性细胞中, β -ctn作为E-cad与细胞骨架肌动蛋白之间的连接

者, 通常分布在细胞膜上, 维持着细胞间黏附连接的稳定; 而在肿瘤恶性演变过程中, E-cad的表达会出现下调, 导致E-cad/ctn复合体不稳定并解离, 使 β -ctn从膜上释放入胞浆, 同时在Wnt信号通路激活、“ β -ctn降解复合物”[由axin蛋白、GSK-3、APC组成]受到抑制的情况下, 胞浆中的 β -ctn得以稳定存在, 且部分能转移入核内, 与T细胞因子/淋巴增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancing factor, TCF/LEF)组成转录激活复合体, 共同促进特定基因的转录, 使得肿瘤细胞出现EMT的相关改变。 β -ctn在胃癌的侵袭转移中发挥着重要的作用。如Zhang等^[30]发现KLF4蛋白可通过下调 β -ctn的表达来抑制胃癌细胞的迁移、侵袭; Zha等^[31]发现HMGA2可通过激活Wnt/ β -ctn通路来诱导胃癌细胞发生EMT; Han等^[32]亦发现化疗药阿霉素可促进胃癌细胞的迁移、侵袭, 而且这一作用与阿霉素激活 β -ctn、诱导EMT发生有关。另外胃癌的临床研究亦发现 β -ctn的表达水平与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期、分化程度及患者五年生存率呈显著相关, 是很好的评估胃癌生物学行为的指标^[33]。

2.2 Vimentin Vimentin是间质细胞的特征性成分, 其通常不表达在上皮细胞中。但研究发现某些上皮源性肿瘤细胞亦可表达Vimentin, 是一种EMT的标志物^[34]。Vimentin的表达水平与肿瘤细胞的迁移侵袭能力密切相关, 当其表达高时肿瘤的迁移侵袭能力是更强的, 而当抑制其表达时肿瘤的迁移侵袭能力是受到明显抑制的^[35,36]。而且Wei等^[37]发现Vimentin有可能是通过C-src途径调节E-cad和 β -catenin的形式来实现其对肿瘤侵袭转移的促进作用。在胃癌中Vimentin的表达亦具有一定的临床意义, 如Fuyuhiko等^[38]通过免疫荧光染色对胃癌组织中Vimentin的表达进行了检测, 发现Vimentin的阳性率为32%(86/265), 其的阳性表达与疾病晚期、不良组织分型、淋巴结转移、不良预后密切相关, 是一种评估胃癌侵袭表型的有用标志物。另外Iwatsuki等^[39]关于胃癌患者骨髓样本中Vimentin表达的研究发现, 原发灶的肿瘤细胞并不表达Vimentin, 而在那些入侵血管或骨髓的肿瘤细胞中却能检测到Vimentin的阳性表达; 更重要的他们还发现Vimentin表达阳性的肿瘤细胞不仅能在外周循环中存活下来, 也能在转移灶中继续生存, 这些提示了那些Vimentin表达明显上调的肿瘤细胞, 可能与胃癌的转移密切相关。

3 转录因子

在胃癌中促进EMT的转录因子主要是Snail、Twist、ZEB1、ZEB2。

3.1 Snail Snail是一种锌指蛋白, 最初认为其主要是通过抑制E-cad的表达来影响EMT, 但后来发现其促进EMT的机制还涉及到其对上皮细胞特征标志物表达的下调(如claudins、occludins和cytokeratins)和对间质细胞特征标志物表达的上调(如fibronectin和vitronectin)^[34]。Snail在评估胃癌患者的疾病进程和生存预后方面有着一定的价值, 其在胃癌组织中的表达水平与肿瘤的大小、分化程度、临床分期、淋巴及远处转移呈显著相关, 且Snail高表达的胃癌患者的总体生存率明显低于Snail低表达的胃癌患者^[40]。细胞实验亦发现上调和抑制Snail的表达能分别增强和抑制胃癌细胞的体外迁移侵袭能力^[41,42]。另外亦有研究发现环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)可通过影响核因子 κ B和Snail通路来调控胃癌中E-cad的表达水平, 这也是COX-2调控胃癌侵袭、转移的机制之一^[43]。这些都提示了snail在胃癌侵袭转移中的重要作用。

3.2 Twist Twist是一种通过特异性作用于E盒反应元件来调控靶基因表达的转录因子, EMT相关因子便是其主要调控的靶基因。在EMT中, 其既可以作为转录抑制因子(如参与下调E-cad), 也可以作为转录激活因子(如参与上调N-cad和fibronectin)来发挥作用。在胃癌组织和转移淋巴结中Twist的表达水平是明显升高的(与正常胃黏膜相比), 进一步分析发现其与胃癌的浸润深度、淋巴和远处转移呈显著正相关, 另外亦发现Twist高表达的胃癌患者的五年明显低于Twist低表达的胃癌患者, 这提示了Twist可能参与了胃癌的侵袭转移过程, 而且是一个评估胃癌预后的有用标志^[44]。细胞实验亦有类似的发现, Liu等^[45]利用siRNA干扰技术特异性抑制胃癌细胞内Twist的表达, 发现胃癌细胞的迁移侵袭能力会受到明显的抑制。

3.3 ZEB1 ZEB1是一类重要的E-cad转录抑制因子, 并在肿瘤的侵袭转移中发挥着重要的作用^[46,47]。在胃癌组织中, ZEB1的表达是明显增高的(与周围正常组织相比), 而且ZEB1的高表达在晚期(III、IV期)、淋巴转移、分化程度低的胃癌患者中更为常见; 而体外实验亦证实ZEB1能促进胃癌的侵袭转移, 通过转染ZEB1特异性siRNA, 在抑制ZEB1表达的同时, 也会伴有E-cad的上调表达, 且胃癌细胞的迁移侵袭能力

■创新盘点

本文总结了上皮间质转化相关的生物标志物在胃癌中的研究现状, 着重讨论了细胞表面蛋白(E-cadherin、N-cadherin)、细胞骨架蛋白(β -catenin、Vimentin)以及转录因子(Snail、Twist、ZEB1、ZEB2)。

■应用要点

鉴于上皮间质转化在肿瘤侵袭和转移过程中的重要性,深入研究和寻找与EMT发生密切相关的特异性生物标志物,将为肿瘤转移的早期诊断、预后评估开辟新的视野,并且有望为肿瘤治疗提供新的靶点方向。

也会受到抑制^[48]。另外Okugawa等^[49]通过Logistic回归分析亦发现ZEB1是胃癌腹膜转移的一个独立危险因素。

3.4 ZEB2 ZEB2(即SIP1),也是E-cad的转录抑制因子,除了E-cad外,其还能直接抑制细胞连接相关蛋白的表达^[50]。ZEB2的上调表达在多种肿瘤组织中都可发现,包括胃癌,是一种促癌因子。在胃癌组织中ZEB2 mRNA的高表达与肿瘤浸润深度、淋巴转移、TNM分期、不良预后是呈正相关的;通过shRNA抑制ZEB2的表达,可以显著抑制胃癌细胞的迁移侵袭能力,且这一抑制作用至少有部分是通过其对EMT相关基因(如*E-cad*、*fibronectin*、*Vimentin*)的调节来实现的^[51]。

4 结论

上皮间质转化是上皮细胞转化成间充质样细胞并伴随明显基因和表型改变的一种多阶段过程,这种转化会赋予肿瘤细胞侵袭和转移能力,使其更易形成远处转移灶。本文综述了近年来上皮间质转化在肿瘤转移中作用的研究进展,讨论了上皮间质转化的相关生物标志物,包括:细胞表面蛋白、细胞骨架蛋白、转录因子等。目前这些生物标志物在判断体内上皮间质转化的发生上具有一定的局限性,因为上述标志物在不同状态的肿瘤细胞中,表达模式是不尽相同的。如Iwatsuki等^[39]研究发现原发灶的肿瘤细胞并不表达Vimentin,而在那些入侵血管或骨髓的肿瘤细胞中却出现了Vimentin的表达。Brabletz等^[52]亦有类似的发现,他们在游离于血管中的结肠癌细胞中发现了E-cad的表达缺失和 β -ctn的核聚集,但在原发灶和肝转移灶中的结肠癌细胞却发现了不同的表达模式,即E-cad/ β -ctn主要表达于细胞膜上。因此仍需寻找更好的标志物或方法来鉴定体内肿瘤是否发生上皮间质转化。以进一步探讨其在胃癌发生、发展中所起的作用。

5 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Meyer HJ, Wilke H. Treatment strategies in gastric cancer. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 698-705; quiz 706 [PMID: 22114638 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0698]
- Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 449-458 [PMID: 16723991 DOI: 10.1038/nrc1886]
- Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386 DOI: 10.1038/nrc822]
- Berx G, van Roy F. Involvement of members of the

cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a003129 [PMID: 20457567 DOI: 10.1101/cshperspect.a003129]

- Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR, Höfler H. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res* 1994; 54: 3845-3852 [PMID: 8033105]
- Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, Taite H, Scoular R, Miller A, Reeve AE. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998; 392: 402-405 [PMID: 9537325 DOI: 10.1038/32918]
- Machado JC, Oliveira C, Carvalho R, Soares P, Berx G, Caldas C, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simões M. E-cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma. *Oncogene* 2001; 20: 1525-1528 [PMID: 11313896 DOI: 10.1038/sj.onc.1204234]
- Chan AO, Lam SK, Wong BC, Wong WM, Yuen MF, Yeung YH, Hui WM, Rashid A, Kwong YL. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with Helicobacter pylori infection and in gastric cancer. *Gut* 2003; 52: 502-506 [PMID: 12631658]
- Rosivatz E, Becker I, Specht K, Fricke E, Luber B, Busch R, Höfler H, Becker KF. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric cancer. *Am J Pathol* 2002; 161: 1881-1891 [PMID: 12414534 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64464-1]
- Wang BJ, Zhang ZQ, Ke Y. Conversion of cadherin isoforms in cultured human gastric carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 966-970 [PMID: 16521229]
- He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 522-531 [PMID: 15211354 DOI: 10.1038/nrg1379]
- Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, Hiyoshi Y, Iwatsuki M, Tanaka Y, Kinoshita K, Saito S, Baba Y, Baba H. MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S656-S664 [PMID: 22311119 DOI: 10.1245/s10434-012-2217-6]
- Carvalho J, van Grieken NC, Pereira PM, Sousa S, Tijssen M, Buffart TE, Diosdado B, Grabsch H, Santos MA, Meijer G, Seruca R, Carvalho B, Oliveira C. Lack of microRNA-101 causes E-cadherin functional deregulation through EZH2 up-regulation in intestinal gastric cancer. *J Pathol* 2012; 228: 31-44 [PMID: 22450781 DOI: 10.1002/path.4032]
- Schmalhofer O, Brabletz S, Brabletz T. E-cadherin, beta-catenin, and ZEB1 in malignant progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28: 151-166 [PMID: 19153669 DOI: 10.1007/s10555-008-9179-y]
- Mateus AR, Seruca R, Machado JC, Keller G, Oliveira MJ, Suriano G, Luber B. EGFR regulates RhoA-GTP dependent cell motility in E-cadherin mutant cells. *Hum Mol Genet* 2007; 16: 1639-1647 [PMID: 17510211 DOI: 10.1093/hmg/ddm113]
- Carneiro P, Fernandes MS, Figueiredo J, Caldeira J, Carvalho J, Pinheiro H, Leite M, Melo S, Oliveira P, Simões-Correia J, Oliveira MJ, Carneiro F, Figueiredo C, Paredes J, Oliveira C, Seruca R. E-cadherin dysfunction in gastric cancer--cellular consequences, clinical applications and open questions. *FEBS Lett* 2012; 586: 2981-2989 [PMID: 22841718 DOI:

- 10.1016/j.febslet.2012.07.045]
- 18 Tomita K, van Bokhoven A, van Leenders GJ, Ruijter ET, Jansen CF, Bussemakers MJ, Schalken JA. Cadherin switching in human prostate cancer progression. *Cancer Res* 2000; 60: 3650-3654 [PMID: 10910081]
- 19 Nieman MT, Prudoff RS, Johnson KR, Wheelock MJ. N-cadherin promotes motility in human breast cancer cells regardless of their E-cadherin expression. *J Cell Biol* 1999; 147: 631-644 [PMID: 10545506]
- 20 Hazan RB, Phillips GR, Qiao RF, Norton L, Aaronson SA. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis. *J Cell Biol* 2000; 148: 779-790 [PMID: 10684258]
- 21 Kamikihara T, Ishigami S, Arigami T, Matsumoto M, Okumura H, Uchikado Y, Kita Y, Kurahara H, Kijima Y, Ueno S, Natsugoe S. Clinical implications of N-cadherin expression in gastric cancer. *Pathol Int* 2012; 62: 161-166 [PMID: 22360503 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02774.x]
- 22 Maeda M, Johnson KR, Wheelock MJ. Cadherin switching: essential for behavioral but not morphological changes during an epithelium-to-mesenchyme transition. *J Cell Sci* 2005; 118: 873-887 [PMID: 15713751 DOI: 10.1242/jcs.01634]
- 23 Yang Z, Zhang X, Gang H, Li X, Li Z, Wang T, Han J, Luo T, Wen F, Wu X. Up-regulation of gastric cancer cell invasion by Twist is accompanied by N-cadherin and fibronectin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 925-930 [PMID: 17512904 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.05.023]
- 24 Hao L, Ha JR, Kuzel P, Garcia E, Persad S. Cadherin switch from E- to N-cadherin in melanoma progression is regulated by the PI3K/Pten pathway through Twist and Snail. *Br J Dermatol* 2012; 166: 1184-1197 [PMID: 22332917 DOI: 10.1111/j.1365-2133.2012.10824.x]
- 25 Shintani Y, Hollingsworth MA, Wheelock MJ, Johnson KR. Collagen I promotes metastasis in pancreatic cancer by activating c-Jun NH(2)-terminal kinase 1 and up-regulating N-cadherin expression. *Cancer Res* 2006; 66: 11745-11753 [PMID: 17178870 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2322]
- 26 Gao P, Xing AY, Zhou GY, Zhang TG, Zhang JP, Gao C, Li H, Shi DB. The molecular mechanism of microRNA-145 to suppress invasion-metastasis cascade in gastric cancer. *Oncogene* 2013; 32: 491-501 [PMID: 22370644 DOI: 10.1038/onc.2012.61]
- 27 Derycke LD, Bracke ME. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling. *Int J Dev Biol* 2004; 48: 463-476 [PMID: 15349821 DOI: 10.1387/ijdb.041793ld]
- 28 Hulit J, Suyama K, Chung S, Keren R, Agiostratidou G, Shan W, Dong X, Williams TM, Lisanti MP, Knudsen K, Hazan RB. N-cadherin signaling potentiates mammary tumor metastasis via enhanced extracellular signal-regulated kinase activation. *Cancer Res* 2007; 67: 3106-3116 [PMID: 17409417 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3401]
- 29 Maeda M, Johnson E, Mandal SH, Lawson KR, Keim SA, Svoboda RA, Caplan S, Wahl JK, Wheelock MJ, Johnson KR. Expression of inappropriate cadherins by epithelial tumor cells promotes endocytosis and degradation of E-cadherin via competition for p120(ctn). *Oncogene* 2006; 25: 4595-4604 [PMID: 16786001 DOI: 10.1038/sj.onc.1209396]
- 30 Zhang N, Zhang J, Shuai L, Zha L, He M, Huang Z, Wang Z. Krüppel-like factor 4 negatively regulates β -catenin expression and inhibits the proliferation, invasion and metastasis of gastric cancer. *Int J Oncol* 2012; 40: 2038-2048 [PMID: 22407433 DOI: 10.3892/ijo.2012.1395]
- 31 Zha L, Zhang J, Tang W, Zhang N, He M, Guo Y, Wang Z. HMGA2 elicits EMT by activating the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 724-733 [PMID: 23135750 DOI: 10.1007/s10620-012-2399-6]
- 32 Han R, Xiong J, Xiao R, Altaf E, Wang J, Liu Y, Xu H, Ding Q, Zhang Q. Activation of β -catenin signaling is critical for doxorubicin-induced epithelial-mesenchymal transition in BGC-823 gastric cancer cell line. *Tumour Biol* 2013; 34: 277-284 [PMID: 23055201 DOI: 10.1007/s13277-012-0548-3]
- 33 Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1126-1130 [PMID: 18705344]
- 34 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]
- 35 Hendrix MJ, Sefter EA, Sefter RE, Trevor KT. Experimental co-expression of vimentin and keratin intermediate filaments in human breast cancer cells results in phenotypic interconversion and increased invasive behavior. *Am J Pathol* 1997; 150: 483-495 [PMID: 9033265]
- 36 McInroy L, Määttä A. Down-regulation of vimentin expression inhibits carcinoma cell migration and adhesion. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 360: 109-114 [PMID: 17585878 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.06.036]
- 37 Wei J, Xu G, Wu M, Zhang Y, Li Q, Liu P, Zhu T, Song A, Zhao L, Han Z, Chen G, Wang S, Meng L, Zhou J, Lu Y, Wang S, Ma D. Overexpression of vimentin contributes to prostate cancer invasion and metastasis via src regulation. *Anticancer Res* 2008; 28: 327-334 [PMID: 18383865]
- 38 Fuyuhiko Y, Yashiro M, Noda S, Kashiwagi S, Matsuo K, Doi Y, Kato Y, Kubo N, Ohira M, Hirakawa K. Clinical significance of vimentin-positive gastric cancer cells. *Anticancer Res* 2010; 30: 5239-5243 [PMID: 21187520]
- 39 Iwatsuki M, Mimori K, Fukagawa T, Ishii H, Yokobori T, Sasako M, Baba H, Mori M. The clinical significance of vimentin-expressing gastric cancer cells in bone marrow. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2526-2533 [PMID: 20358301 DOI: 10.1245/s10434-010-1041-0]
- 40 He H, Chen W, Wang X, Wang C, Liu F, Shen Z, Xu J, Gu J, Sun Y. Snail is an independent prognostic predictor for progression and patient survival of gastric cancer. *Cancer Sci* 2012; 103: 1296-1303 [PMID: 22471696 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02295.x]
- 41 Shin NR, Jeong EH, Choi CI, Moon HJ, Kwon CH, Chu IS, Kim GH, Jeon TY, Kim DH, Lee JH, Park do Y. Overexpression of Snail is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer. *BMC Cancer* 2012; 12: 521 [PMID: 23151184 DOI: 10.1186/1471-2407-12-521]
- 42 Guo HM, Zhang XQ, Xu CH, Zou XP. Inhibition of invasion and metastasis of gastric cancer cells through snail targeting artificial microRNA interference. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 3433-3438 [PMID: 22471493]

■名词解释

上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT): 上皮细胞转化成间充质样细胞并伴随明显基因和表型改变的一种多阶段过程。以其发生的特定生物学环境为根据, 其可分为三型: 与胚胎植入、发育和器官形成相关的EMT为I型EMT; 与损伤修复、组织再生和器官纤维化相关的EMT为II型EMT; 与上皮源性恶性肿瘤表型转化相关的EMT为III型EMT。

■同行评价

本文综述了近年来上皮间质转化在胃癌的研究进展, 讨论了上皮间质转化的相关生物标志物, 包括: 细胞表面蛋白、细胞骨架蛋白、转录因子等。但目前这些生物标志物在判断体内上皮间质转化的发生上具有一定的局限性, 仍需寻找更好的标志物或方法来鉴定体内肿瘤是否发生上皮间质转化, 进一步探讨其在胃癌发生、发展中的作用。

- 43 Chen Z, Liu M, Liu X, Huang S, Li L, Song B, Li H, Ren Q, Hu Z, Zhou Y, Qiao L. COX-2 regulates E-cadherin expression through the NF- κ B/Snail signaling pathway in gastric cancer. *Int J Mol Med* 2013; 32: 93-100 [PMID: 23670240 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1376]
- 44 Ru GQ, Wang HJ, Xu WJ, Zhao ZS. Upregulation of Twist in gastric carcinoma associated with tumor invasion and poor prognosis. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 341-347 [PMID: 21104359 DOI: 10.1007/s12253-010-9332-0]
- 45 Liu AN, Zhu ZH, Chang SJ, Hang XS. Twist expression associated with the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Mol Cell Biochem* 2012; 367: 195-203 [PMID: 22581441 DOI: 10.1007/s11010-012-1333-8]
- 46 Putzke AP, Ventura AP, Bailey AM, Akture C, Opoku-Ansah J, Celiktaş M, Hwang MS, Darling DS, Coleman IM, Nelson PS, Nguyen HM, Corey E, Tewari M, Morrissey C, Vessella RL, Knudsen BS. Metastatic progression of prostate cancer and e-cadherin regulation by zeb1 and SRC family kinases. *Am J Pathol* 2011; 179: 400-410 [PMID: 21703419 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.028]
- 47 Lorenzatti G, Huang W, Pal A, Cabanillas AM, Kleer CG. CCN6 (WISP3) decreases ZEB1-mediated EMT and invasion by attenuation of IGF-1 receptor signaling in breast cancer. *J Cell Sci* 2011; 124: 1752-1758 [PMID: 21525039 DOI: 10.1242/jcs.084194]
- 48 Jia B, Liu H, Kong Q, Li B. Overexpression of ZEB1 associated with metastasis and invasion in patients with gastric carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2012; 366: 223-229 [PMID: 22466758 DOI: 10.1007/s11010-012-1299-6]
- 49 Okugawa Y, Toiyama Y, Tanaka K, Matsusita K, Fujikawa H, Saigusa S, Ohi M, Inoue Y, Mohri Y, Uchida K, Kusunoki M. Clinical significance of Zinc finger E-box Binding homeobox 1 (ZEB1) in human gastric cancer. *J Surg Oncol* 2012; 106: 280-285 [PMID: 22095522 DOI: 10.1002/jso.22142]
- 50 Vandewalle C, Comijn J, De Craene B, Vermassen P, Bruyneel E, Andersen H, Tulchinsky E, Van Roy F, Berx G. SIP1/ZEB2 induces EMT by repressing genes of different epithelial cell-cell junctions. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: 6566-6578 [PMID: 16314317 DOI: 10.1093/nar/gki965]
- 51 Dai YH, Tang YP, Zhu HY, Lv L, Chu Y, Zhou YQ, Huo JR. ZEB2 promotes the metastasis of gastric cancer and modulates epithelial mesenchymal transition of gastric cancer cells. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1253-1260 [PMID: 22350782 DOI: 10.1007/s10620-012-2042-6]
- 52 Brabletz T, Jung A, Reu S, Porzner M, Hlubek F, Kunz-Schughart LA, Knuechel R, Kirchner T. Variable beta-catenin expression in colorectal cancers indicates tumor progression driven by the tumor environment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10356-10361 [PMID: 11526241 DOI: 10.1073/pnas.171610498]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

肠淋巴系统在急性胰腺炎中的研究进展

刘媛琪, 熊玉霞

刘媛琪, 熊玉霞, 泸州医学院药学院药理教研室 四川省泸州市 646000

刘媛琪, 在读硕士, 主要从事抗炎免疫药理学研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81102868

作者贡献分布: 本文综述由刘媛琪完成; 熊玉霞负责审校.

通讯作者: 熊玉霞, 副教授, 硕士生导师, 646000, 四川省泸州市江阳区忠山路三段319号, 泸州医学院药学院药理教研室. xyx_cell@163.com

电话: 0830-3162291

收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-28

Role of intestinal lymphatic system in pathogenesis of acute pancreatitis

Yuan-Qi Liu, Yu-Xia Xiong

Yuan-Qi Liu, Yu-Xia Xiong, Department of Pharmacology, School of Medicine, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81102868

Correspondence to: Yu-Xia Xiong, Associate Professor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Luzhou Medical College, 319 Zhongshan Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. xyx_cell@163.com
Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-28

Abstract

Acute pancreatitis is a common severe disease involving a complicated cascade of events. The intestinal lymphatic system plays an important role in the development of acute pancreatitis. The intestinal lymph channel is an important pathway for bacterial translocation and endotoxin translocation. The entry of endotoxin into the intestinal lymph system induces the expression of numerous inflammatory factors and cytokines. The increase in tumor necrosis factors (TNFs) and interleukins (ILs) aggravates acute pancreatic injury. Intestinal lymphocytes also play an important role in maintaining a balance of intestinal immune function. Therefore, it is of great significance to understand the role of the intestinal lymph system in the pathogenesis of acute pancreatitis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Intestinal lymph system; Endotoxin; Tumor necrosis factors; Interleukins

Liu YQ, Xiong YX. Role of intestinal lymphatic system in pathogenesis of acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3211-3216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3211.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3211>

摘要

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症, 发病机制复杂. 肠淋巴系统在AP的发展中起着重要作用. 肠淋巴通道是肠道细菌、内毒素移位的重要途径. 肠淋巴液中含有的内毒素诱导众多炎症因子的表达, 肿瘤坏死因子、白介素等细胞因子水平的上调, 都加重胰腺损伤. 肠淋巴细胞在肠免疫功能的维持中发挥了重要作用. 因此对肠淋巴系统在AP中的作用进行探讨具有重要意义.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性胰腺炎; 肠淋巴; 内毒素; 肿瘤坏死因子; 白介素类

核心提示: 急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是常见的外科急腹症之一, 研究证实肠道细菌/内毒素、肠淋巴液中的肿瘤坏死因子- α 、白介素类等炎症介质通过肠淋巴途径移位损伤远隔组织器官; 另一方面, 肠相关性淋巴组织造成的肠道免疫功能障碍, 将加重胰腺和肠道损伤. 由此可见肠淋巴系统在AP中的作用不容忽视.

刘媛琪, 熊玉霞. 肠淋巴系统在急性胰腺炎中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3211-3216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3211.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3211>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是常见的外科急腹症之一. 临床上分为轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)、中等程度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发病机制复杂, 其中经由肠淋巴通道的细菌和内毒素移位以及肠淋巴液中存在的大量介导炎症反应的物质, 均可造成多器官功能损伤, 是AP致死的重要因素. 故肠淋巴系统在AP中的作用需引起足够重视.

■同行评议者

陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

■ 研究前沿

肠淋巴途径在休克等引起的肠源性多器官功能障碍中的重要作用已经得到证实,而关于其在AP中作用的研究相对较少,由此针对改善AP肠系膜淋巴毒性的研究还鲜有报道。

三类。MAP以胰腺水肿为主,病情有自限性,易于治疗;MSAP具备AP的临床表现和生物化学改变,伴有一过性的器官功能衰竭,或伴有局部或全身并发症而不存在持续性的器官功能衰竭;SAP易发生并发症,如出血坏死、器官衰竭等^[1]。其中有将近10%-20%的患者由轻症转为SAP,死亡率近30%^[2]。AP的发病机制尚未完全确定,其主要病理变化为胰酶自身消化。肠道细菌移位(bacterial translocation, BT)、内毒素血症(endotoxemia)及感染的“二次打击”则是导致AP死亡的重要因素^[3]。研究证明细菌和内毒素移位均是经由肠淋巴通道感染组织器官。同时肠淋巴液中存在多种介导炎症反应的物质,可对器官造成损伤^[4]。由此,我们展开了肠淋巴系统在AP中的作用研究。

1 肠淋巴系统的生理学基础

肠屏障系统由肠机械屏障、微生物屏障、免疫屏障以及化学屏障四部分构成。其中肠免疫屏障是人体最大的免疫器官,含有大量的肠道相关淋巴组织(gut-associated lymphatic tissue, GALT)。在腹膜的脏层和壁层均分布有丰富的毛细淋巴管,通过与黏膜下层和肌层的淋巴管吻合,形成广泛的淋巴管网。毛细淋巴管和淋巴管网共同构成淋巴管。腹膜脏壁的淋巴管网与肠道淋巴管网又汇集成淋巴丛。淋巴丛发出集合淋巴管注入淋巴结,形成最主要的淋巴流出通道-肠系膜淋巴管。肠淋巴途径在物质代谢过程中,发挥着重要作用。肠淋巴系统的生理特征,决定了其在AP中起着重要作用^[5]。

2 肠道淋巴通道在AP中的作用

正常肠道中,细菌和内毒素(endotoxin, ET)含量很高,但并不致病。当机体处于应激状态时,肠道屏障功能减弱,肠道内的细菌及其产物如外毒素、ET将通过肠腔进入无菌的肠外部位,该过程称之为肠道细菌移位。Tian等^[6]研究显示,肠道屏障系统在AP中具有重要作用。肠道细菌可能首先通过肠道淋巴回流,经淋巴通道移位入血,再由肺循环影响肺,进而经体循环影响全身脏器,即肠系膜淋巴结-胸导管-体循环轴途径。Watkins等^[7]通过对肠淋巴管的结扎研究,提示肠道淋巴管可能是细菌移位的主要通道^[8]。Fritz等^[9]研究认为,引起胰腺炎的细菌可能始于小肠,经由肠淋巴管损伤脏器。AP时,细菌移位的机制主要包括:(1)胃肠道微生态平衡的破坏导致肠

道细菌过度繁殖;(2)肠道黏膜屏障的通透性增加;(3)宿主免疫功能下降。肠道细菌移位的步骤包括:(1)移位的细菌黏附到上皮细胞表面或肠黏膜表面溃疡部位;(2)细菌通过黏膜屏障并以活菌进入黏膜固有层;(3)移位的细菌及其产物如ET进入淋巴管或血流,促进炎症介质生成,引起全身炎症反应。炎症介质中,细胞因子可自身激活、促进其他细胞因子和炎症介质的产生,从而引发连锁和放大效应,称为“瀑布效应”。研究表明肠道屏障受损后,侵入的细菌毒素和肠道产生的炎症介质一同经由淋巴通道回流进入胸导管从而波及全身,提示淋巴通道在肠源性感染中起重要作用^[10]。

3 肠淋巴液在AP中的作用

一般认为:毛细淋巴管吸收组织液形成淋巴液,最后经胸导管和右淋巴导管流入静脉血液,其通透性比毛细血管大得多,故对细胞、蛋白、及其他大分子物质的回吸收具有重要作用。肠屏障通透性增加,易发生细菌、内毒素移位,引发肠源性感染、肠源性内毒素血症。目前尚无研究指出肠淋巴液的确切成分。但可以明确的是肠淋巴液含有多种介导炎症反应的物质。其中ET和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在预测胰腺炎的严重程度,介导AP的发展转归中起着重要作用^[11]。

3.1 细菌及内毒素在AP中的作用 肠系膜淋巴液含有多种能介导炎症反应的物质,以ET最具代表性。Elder等^[12]在用雨蛙肽诱导的胰腺炎大鼠中注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),发现与单纯的用雨蛙肽诱导的胰腺炎组相比较,加注了LPS的大鼠组,对胰腺炎大鼠造成的“二次打击”更为严重。

ET通过与单核细胞上的脂多糖受体CD14结合表达,激活单核/巨噬细胞释放多种细胞因子或炎症介质。CD14缺乏跨膜区,且胞内区不含有信号转导基序,此时Toll样受体4(Toll-like receptors-4, TLR-4)充当了CD14和脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein, LBP)的后信号转导蛋白。在肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)时, LBP和CD14合成均增加,使ET效应增强。研究证明脂多糖结合蛋白/脂多糖受体(LBP/CD14)是机体识别和增敏LPS的重要系统^[13]。

ET可直接导致胰腺损伤,还可通过刺激单核巨噬细胞系统释放的多种血管活性物质、

TNF、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6等, 促进胰腺组织黏附分子: P-选择素、E-选择素和细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)mRNA的表达, 间接引起胰腺微循环功能紊乱。Won等^[14]研究显示, ET可激活核转录因子(nuclear factor κ B, NF- κ B), NF- κ B是导致SAP的早期重要分子事件。ET可刺激ICAM-1的表达增强, 加重胰腺损伤。研究显示抗ICAM-1单克隆抗体(aICAM-1)可减轻胰腺损伤^[15]。IL-18对ICAM-1的表达起促进作用^[16]。ET还可能通过作用于血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等加重AP损伤^[17]。

ET可激活单核巨噬细胞和粒细胞产生大量氧自由基(oxygen free radical, OFR)。氧自由基一方面与膜内多价不饱和脂肪酸结合, 形成多种脂质过氧化物(lipid hydroperoxide, LPO), 造成脂质过氧化损伤; 另一方面, 作用于含巯基的氨基酸, 使蛋白质变性和失活, 造成共价键结合性损伤, 加重胰腺损伤。Yang等^[18]通过LPS诱导小鼠AP模型, 观察到丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平有所降低, 提示ET诱导释放了自由基。Yang等^[18]通过使用自由基清除剂依达拉奉治疗AP模型大鼠, 证明依达拉奉是对抗胰腺白细胞浸润和组织损伤的重要因子, 提示自由基参与胰腺组织损伤过程。ET参与促进细胞因子、黏附因子、氧自由基的生成, 直接或间接加重AP损伤^[19]。在AP的发展、转归及最终导致的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)中起着重要作用^[20]。

3.2 TNF- α 在AP中的作用 TNF- α 被认为是AP的关键炎症介质^[21]。低水平TNF- α 具有防御病原微生物的作用, 若过度激活则出现一系列的炎症损伤^[22]。TNF- α 与两种相容性受体sTNFR55和sTNFR75结合^[23], 直接或间接活化白细胞加重胰腺损伤^[24]。Liu等^[25]通过结扎实验动物肠淋巴管, 证明在阻断淋巴液回流后, TNF- α 的生产减少, 重要器官的炎症因子生成减少, 多器官损伤有所减轻^[26]。

Yang等^[27]通过对模型大鼠注射p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)特异性抑制剂SB203580, 发现TNF- α 介导的内皮细胞通透性下降, 提示p38MAPK可能与TNF- α mRNA的表达相关。p38MAPK磷酸化, 调节细胞间黏附和NF- κ B,

从而增强TNF- α mRNA的表达。研究发现, 在AP时, p38MAPK与细胞因子的大量产生密切相关^[28]。p38MAPK通过丝裂原活化蛋白激酶的激酶(MAP kinase kinase, MKK)调节诱导型氮氧化物合酶(nitric oxide synthase, iNOS)和环氧化物酶-2(epoxide hydrolase -2, COX-2)的表达, 介导炎症反应。在大鼠实验性AP模型中, 用抗TNF的多克隆抗体(polyclonal antibodies, PAb)预处理, 能减轻病变, 延长大鼠生存期。PAb可直接拮抗TNF- α 损害作用, 还可降低血清TNF- α 、IL-1、IL-6水平, 减少TNF- α 诱发的蛋白水解酶、磷脂酶A2氧自由基的产生, 从而减轻胰腺损伤。TNF- α 在AP的发生、发展中起着举足轻重的作用^[29]。随着重组肿瘤坏死因子(recombinant tumor necrosis factor, rTNF)研究的深入, 并大范围地投入到临床研究和治疗中, TNF- α 研究将更深入^[30]。

3.3 IL类在AP中的作用 胰腺局部炎症触发还可激活白介素类炎症因子。AP患者白介素IL-1b、IL-6、IL-8、IL-12、IL-10血清水平显著高于正常人组。这些炎症因子对炎症反应起正反馈作用, 可促进和加重AP的并发症^[31,32]。IL-10作为细胞因子合成抑制剂(cytokine synthesis inhibitor, CSIF), 是诸多抗炎因子中最重要的一个, 包括IL-10、IL-19、IL-20等九个成员^[33]。IL-10可通过抑制细胞因子mRNA的表达抑制IL-1、IL-6、TNF的合成, 同时限制化学增活素单核细胞趋化蛋白-1、单核细胞趋化蛋白-5的合成^[34], 还可以抑制NF- κ B的活化和NK细胞产生干扰素^[35]。

目前对新发现的白介素也有所研究。IL-17系由新型CD4⁺效应T细胞-辅助性17(Th17)分泌, IL-23是由树突状细胞和其他抗原递呈细胞产生, 可促进IL-17的表达, 是介导Th17细胞效应的重要细胞因子之一。研究显示IL-17和IL-23均能在早期提示AP的严重程度, IL-17和IL-23的数量级显示, IL-17的敏感性比IL-23还好^[24,29,36]。于是我们认为在SAP发生时, 存在着Th17细胞的过度激活或者是Th17细胞功能亢进。IL-22由激活的T细胞和NK细胞产生, 可间接或直接抑制环氧化物酶-2、前列腺素E₂、IL-1B、单核细胞趋化蛋白-1的活性, 上述因子均与AP的恶化相关。Huai等^[37]研究显示, 编译IL-22和Th22的mRNA在AP中有下调, 并随着疾病转归急性下降。

4 肠相关性淋巴组织在AP中的作用

肠免疫功能的异常在AP病情的发展中起着极其重要的作用^[38]。肠道免疫系统有赖于肠相关性淋

■相关报道

Magnotti等在创伤性休克引起细菌/内毒素移位造成急性肺损伤的研究中发现引起肺部损伤的肠源性体液因子含在肠系膜淋巴液中而不是在门静脉血中, 类似结果在烧伤、肠缺血-再灌注损伤、腹腔注射内毒素造成内毒素血症引起的肺损伤中也得到了证实, 肠淋巴系统在肠源性感染中的重要性引起了人们的关注。

■创新盘点

AP发病机制复杂, 肠源性ET移位造成的多器官功能损伤是当下的研究热点, 阻止或减少ET移位成为AP防治的重要方向, 肠淋巴途径学说的提出对肠源性感染从理论依据和发病机制上进行了完善和补充. 本文对肠淋巴系统在AP中的作用做了较详细的综述报道, 以期对AP治疗方法的研究提供有益的启示.

巴组织(GALT), GALT包括了大约70%的体内淋巴细胞数. GALT分布于peyer集合淋巴结(peyer patches, PP)、淋巴滤泡(lymphoid follicle, ILFs)以及固有层(lamina propria, LP). 在AP时, 肠上皮淋巴细胞、固有层内淋巴细胞数量减少, PP萎缩, $CD4^+/CD8^+$ 比值以及PP的黏膜地址素细胞黏附分子(mucosal addressin cell adhesion molecule-1, MAdCAM-1)阳性表达下降, GALT细胞数量亦下降.

4.1 肠上皮细胞间淋巴细胞 肠上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)是黏膜免疫的效应细胞, 广泛存在于消化系黏膜的上皮细胞间, 与肠上皮细胞接触而起作用^[39]. IEL在十二指肠中分布最多, 乙状结肠最少. 90%的IEL为TCR- $CD3^+$ 的T细胞. 在小肠中, IEL主要以抑制性T细胞 $CD8^+$ 为主; 在大肠中, $CD8^+$ 和辅助性T细胞 $CD4^+$ 数量相当. IELs主要发挥类似细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, CTL)的作用. 另外, 肠上皮细胞基膜表达的E-钙依赖黏附素, 可识别IELs上高水平表达的整合素 $\alpha E\beta 7$, 介导IELs与上皮细胞黏附, 有利于淋巴细胞归巢到黏附部位. CCR3、CCR4、CCR5等趋化因子在IEL表面表达, 可能在淋巴细胞迁移、归巢中发挥着作用. 在IEL迁移中, 1-磷酸-神经鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, SIP)可能调节了淋巴细胞从次级淋巴组织迁移到效应器官.

4.2 肠固有层淋巴细胞 肠固有层淋巴细胞(lamina propria lymphocyte, LPL)是黏膜免疫的效应部位, 位于黏膜上皮基底膜下方. 主要以 $CD4^+$ 的 $\alpha\beta$ TCR T为主, 通过分泌IL-4、IL-5、IL-6等细胞因子, 辅助集合淋巴结生发中心的浆细胞产生sIgA. $CD4^+$ T淋巴细胞又可分为Th1和Th2细胞. 生理条件下Th1/Th2为1:3, 在炎症反应发生时, Th1/Th2失衡加重炎症反应. 机体遭受AP时, LPLs和IELs受损, 进而导致肠黏膜免疫功能障碍, 引发细菌和ET移位, 进一步可引起SIRS和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS).

在肠系膜固有层高内皮静脉上, MAdCAM-1有选择性表达. MAdCAM-1是免疫球蛋白超家族之一, 是肠淋巴细胞归巢的分子基础. 可介导未致敏的淋巴细胞到PP和肠系膜固有淋巴结, 与 $\alpha 4\beta 7$ 特异性结合, 参与淋巴细胞的归巢, 调节炎症反应, 从而维持肠免疫屏障功能^[40].

另外, 在肠系膜上的调节性淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)也参与了肠道免疫的调节机

制. 研究显示, $CD4^+$ 、 $CD25^+$ Tregs在胰腺炎症反应中起着重要作用. 其中Foxp3是免疫抑制性 $CD4^+$ 、 $CD25^+$ T细胞的共同标志, 也是T细胞向免疫抑制定向分化的关键因素^[41,42].

4.3 peyer集合淋巴结 peyer集合淋巴结(PP)是黏膜免疫的诱导部位. 由多个富含B淋巴细胞的淋巴滤泡集结而成, 是B淋巴细胞最终分化为IgA定向分泌细胞的关键部位. 当机体处于AP下, PP的免疫功能呈下降趋势, 这可能与PP结细胞凋亡, 使B淋巴细胞数量减少, 导致IgA减少有关. 此时细菌易于黏附到肠黏膜上皮细胞, 破坏细胞膜并到达黏膜的基层, 经淋巴管引流到肠系膜淋巴结, 再扩散到其他器官和组织, 引起细菌和ET移位, 导致多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF)等反应.

5 结论

AP是常见的外科急腹症之一, SAP患者往往死于继发的感染和脏器功能衰竭^[43]. 肠道菌群、ET通过肠腔移位进入其他组织器官, 激活多种炎症介质的释放而引发炎症级联反应, 对机体构成“二次打击”, 损伤组织器官. 肠淋巴液中含ET、TNF- α 、ILs等炎症介质介导炎症反应. 肠免疫功能障碍, 致肠淋巴细胞失衡, 从而加重胰腺损伤. 随着肠淋巴系统在AP中的作用研究不断深入. 在治疗AP时, 除了采用传统的营养支持、抗生素应用以及脏器维护等方法外, 结合使用清除ET、降低中性粒细胞活化等中药, 针对肠淋巴系统采取一些治疗措施, 将会是一个新的切入点.

6 参考文献

- 1 Sarr MG. 2012 revision of the Atlanta classification of acute pancreatitis. *Pol Arch Med Wewn* 2013; 123: 118-124 [PMID: 23396317]
- 2 Vaz J, Akbarshahi H, Andersson R. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 616-630 [PMID: 23431068 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.616]
- 3 Capurso G, Zerboni G, Signoretti M, Valente R, Stigliano S, Piciocchi M, Delle Fave G. Role of the gut barrier in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46 Suppl: S46-S51 [PMID: 22955357 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182652096]
- 4 Wohlaer MV, Moore EE, Harr J, Eun J, Fragoso M, Banerjee A, Silliman CC. Cross-transfusion of post-shock mesenteric lymph provokes acute lung injury. *J Surg Res* 2011; 170: 314-318 [PMID: 21550053 DOI: 10.1016/j.jss.2011.03.045]
- 5 Sharpe SM, Qin X, Lu Q, Feketeova E, Palange DC, Dong W, Sheth SU, Lee MA, Reino D, Xu DZ, Deitch EA. Loss of the intestinal mucus layer in the normal rat causes gut injury but not

- toxic mesenteric lymph nor lung injury. *Shock* 2010; 34: 475-481 [PMID: 20220565 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181dc3ff5]
- 6 Tian R, Tan JT, Wang RL, Xie H, Qian YB, Yu KL. The role of intestinal mucosa oxidative stress in gut barrier dysfunction of severe acute pancreatitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 349-355 [PMID: 23426538]
- 7 Watkins AC, Caputo FJ, Badami C, Barlos D, Xu da Z, Lu Q, Feketeova E, Deitch EA. Mesenteric lymph duct ligation attenuates lung injury and neutrophil activation after intraperitoneal injection of endotoxin in rats. *J Trauma* 2008; 64: 126-130 [PMID: 18188110 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181574a8a]
- 8 Zou ZD, Zhang ZZ, Wang L, Wang Y, Zheng GH. [The role of mesenteric lymph in pathogenesis of systemic inflammatory response syndrome and systemic complications following severe acute pancreatitis in rats]. *Zhongguo Weizhongbing Jijiu Yixue* 2010; 22: 206-209 [PMID: 20398463]
- 9 Fritz S, Hackert T, Hartwig W, Rossmann F, Strobel O, Schneider L, Will-Schweiger K, Kommerell M, Büchler MW, Werner J. Bacterial translocation and infected pancreatic necrosis in acute necrotizing pancreatitis derives from small bowel rather than from colon. *Am J Surg* 2010; 200: 111-117 [PMID: 20637344 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2009.08.019]
- 10 Zhang XP, Xu HM, Jiang YY, Yu S, Cai Y, Lu B, Xie Q, Ju TF. Influence of dexamethasone on mesenteric lymph node of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3511-3517 [PMID: 18567079]
- 11 Koh YY, Jeon WK, Cho YK, Kim HJ, Chung WG, Chon CU, Oh TY, Shin JH. The effect of intestinal permeability and endotoxemia on the prognosis of acute pancreatitis. *Gut Liver* 2012; 6: 505-511 [PMID: 23170158 DOI: 10.5009/gnl.2012.6.4.505]
- 12 Elder AS, Saccone GT, Bersten AD, Dixon DL. Evaluation of lung injury and respiratory mechanics in a rat model of acute pancreatitis complicated with endotoxin. *Pancreatology* 2012; 12: 240-247 [PMID: 22687380 DOI: 10.1016/j.pan.2012.03.001]
- 13 Watanabe S, Kumazawa Y, Inoue J. Liposomal lipopolysaccharide initiates TRIF-dependent signaling pathway independent of CD14. *PLoS One* 2013; 8: e60078 [PMID: 23565187 DOI: 10.1371/journal.pone.0060078]
- 14 Won JH, Shin JS, Park HJ, Jung HJ, Koh DJ, Jo BG, Lee JY, Yun K, Lee KT. Anti-inflammatory effects of madecassic acid via the suppression of NF-kappaB pathway in LPS-induced RAW 264.7 macrophage cells. *Planta Med* 2010; 76: 251-257 [PMID: 19774506 DOI: 10.1055/s-0029-1186142]
- 15 Zhang X, Wu D, Jiang X. Icam-1 and acute pancreatitis complicated by acute lung injury. *JOP* 2009; 10: 8-14 [PMID: 19129609]
- 16 Katakami N, Kaneto H, Matsuhisa M, Yoshiuchi K, Kato K, Yamamoto K, Umayahara Y, Kosugi K, Hori M, Yamasaki Y. Serum interleukin-18 levels are increased and closely associated with various soluble adhesion molecule levels in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30: 159-161 [PMID: 17192354]
- 17 张喜平, 吴承钧, 李志军. 重症急性胰腺炎并发肺损伤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 299-306
- 18 Yang T, Mao YF, Liu SQ, Hou J, Cai ZY, Hu JY, Ni X, Deng XM, Zhu XY. Protective effects of the free radical scavenger edaravone on acute pancreatitis-associated lung injury. *Eur J Pharmacol* 2010; 630: 152-157 [PMID: 20035747 DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.12.025]
- 19 Vonlaufen A, Xu Z, Daniel B, Kumar RK, Pirola R, Wilson J, Apte MV. Bacterial endotoxin: a trigger factor for alcoholic pancreatitis? Evidence from a novel, physiologically relevant animal model. *Gastroenterology* 2007; 133: 1293-1303 [PMID: 17919500]
- 20 Sharma M, Sachdev V, Singh N, Bhardwaj P, Pal A, Kapur S, Saraya A. Alterations in intestinal permeability and endotoxemia in severe acute pancreatitis. *Trop Gastroenterol* 2012; 33: 45-50 [PMID: 22803295]
- 21 Ho YP, Chiu CT, Sheen IS, Tseng SC, Lai PC, Ho SY, Chen WT, Lin TN, Lin CY. Tumor necrosis factor- α and interleukin-10 contribute to immunoparalysis in patients with acute pancreatitis. *Hum Immunol* 2011; 72: 18-23 [PMID: 20937337 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.10.002]
- 22 Christensen A. Update on dexmedetomidine for adult ICU sedation. *Conn Med* 2009; 73: 469-472 [PMID: 19777981]
- 23 Westlund KN, Zhang L, Ma F, Oz HS. Chronic inflammation and pain in a tumor necrosis factor receptor (TNFR) (p55/p75/-) dual deficient murine model. *Transl Res* 2012; 160: 84-94 [PMID: 22687964 DOI: 10.1016/j.trsl.2011.10.003]
- 24 Botoi G, Andercou A. [Interleukin 17--prognostic marker of severe acute pancreatitis]. *Chirurgia (Bucur)* 2009; 104: 431-438 [PMID: 19886051]
- 25 Liu C, Wu Q, Li Q, Liu D, Su H, Shen N, Tai M, Lv Y. Mesenteric lymphatic ducts ligation decreases the degree of gut-induced lung injury in a portal vein occlusion and reperfusion canine model. *J Surg Res* 2009; 154: 45-50 [PMID: 19201426 DOI: 10.1016/j.jss.2008.06.006]
- 26 Lee MA, Yatani A, Sambol JT, Deitch EA. Role of gut-lymph factors in the induction of burn-induced and trauma-shock-induced acute heart failure. *Int J Clin Exp Med* 2008; 1: 171-180
- 27 Yang D, Xie P, Guo S, Li H. Induction of MAPK phosphatase-1 by hypothermia inhibits TNF- α -induced endothelial barrier dysfunction and apoptosis. *Cardiovasc Res* 2010; 85: 520-529 [PMID: 19793766 DOI: 10.1093/cvr/cvp323]
- 28 Park AM, Kudo M, Hagiwara S, Tabuchi M, Watanabe T, Munakata H, Sakurai T. p38MAPK suppresses chronic pancreatitis by regulating HSP27 and BAD expression. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 2284-2291 [PMID: 22549003 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.010]
- 29 Li A, Hu WM, Lu HM, Zhang ZD. [Study of the function and mechanism of interleukin cytokines in acute pancreatitis rats]. *Sichuan Daxue Xuebao (Yixueban)* 2011; 42: 358-363 [PMID: 21826999]
- 30 Li M, Xu T, Zhang Z, Xue X, Zhang C, Qin X, Li W, Hao Q, Zhang W, Zhang Y. Phase II multicenter, randomized, double-blind study of recombinant mutated human tumor necrosis factor- α in combination with chemotherapies in cancer patients. *Cancer Sci* 2012; 103: 288-295 [PMID: 22085427 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02153.x]
- 31 Aoun E, Chen J, Reighard D, Gleeson FC, Whitcomb DC, Papachristou GI. Diagnostic accuracy of interleukin-6 and interleukin-8 in predicting severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Pancreatology* 2009; 9: 777-785 [PMID: 20110745 DOI:

应用要点

本文从肠淋巴系统的角度, 总结分析了肠淋巴通道、肠淋巴液中的内毒素、TNF- α 、白介素类, 以及肠相关性淋巴组织在AP中的作用, 对于AP的发病机制、治疗方法的研究有一定的理论价值和指导意义, 具有实用性。

■同行评价

本文综述了肠淋巴系统在AP中的作用及其意义,在AP发病机制探讨方面有先进性与理论价值。

- 10.1159/000214191]
- 32 Fisic E, Poropat G, Bilic-Zulle L, Licul V, Milic S, Stimac D. The Role of IL-6, 8, and 10, sTNF α , CRP, and Pancreatic Elastase in the Prediction of Systemic Complications in Patients with Acute Pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 282645 [PMID: 23476635 DOI: 10.1155/2013/282645]
- 33 Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 71-109 [PMID: 21166540 DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101312]
- 34 Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008; 180: 5771-5777 [PMID: 18424693]
- 35 Mühl H. Pro-Inflammatory Signaling by IL-10 and IL-22: Bad Habit Stirred Up by Interferons? *Front Immunol* 2013; 4: 18 [PMID: 23382730 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00018]
- 36 Ni J, Hu G, Xiong J, Shen J, Shen J, Yang L, Tang M, Zhao Y, Ying G, Yu G, Hu Y, Xing M, Wan R, Wang X. Involvement of interleukin-17A in pancreatic damage in rat experimental acute necrotizing pancreatitis. *Inflammation* 2013; 36: 53-65 [PMID: 22990529 DOI: 10.1007/s10753-012-9519-5]
- 37 Huai JP, Sun XC, Chen MJ, Jin Y, Ye XH, Wu JS, Huang ZM. Melatonin attenuates acute pancreatitis-associated lung injury in rats by modulating interleukin 22. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5122-5128 [PMID: 23049224 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.5122]
- 38 Zhang XP, Chen HQ, Liu F, Zhang J. Advances in researches on the immune dysregulation and therapy of severe acute pancreatitis. *J Zhejiang Univ Sci B* 2009; 10: 493-498 [PMID: 19585666 DOI: 10.1631/jzus.B0820265]
- 39 吴维, 邱骅婧, 刘占举. 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 568-573
- 40 Cieza RJ, Cao AT, Cong Y, Torres AG. Immunomodulation for gastrointestinal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; 10: 391-400 [PMID: 22397571 DOI: 10.1586/eri.11.176]
- 41 McGee HS, Edwan JH, Agrawal DK. Flt3-L increases CD4+CD25+Foxp3+ICOS+ cells in the lungs of cockroach-sensitized and -challenged mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010; 42: 331-340 [PMID: 19448155 DOI: 10.1165/rcmb.2008-0397OC]
- 42 Fukumura Y, Takase M, Mitani K, Suda K, Imahasan A, Nobukawa B, Ueda A, Abe H, Yao T. Amount of CD4+CD25+ regulatory T cells in autoimmune pancreatitis and pilonidal sinus. *Pancreas* 2012; 41: 910-915 [PMID: 22466163 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31823e3c66]
- 43 Thoeni RF. The revised Atlanta classification of acute pancreatitis: its importance for the radiologist and its effect on treatment. *Radiology* 2012; 262: 751-764 [PMID: 22357880 DOI: 10.1148/radiol.11110947]

编辑 田滢 电编 闫晋利



胰腺癌乏氧与血管生成的研究进展

王思亮, 吴荣

王思亮, 吴荣, 中国医科大学附属盛京医院肿瘤科 辽宁省沈阳市 110022

王思亮, 主要从事消化系统肿瘤的基础应用研究.

作者贡献分布: 本文综述由王思亮完成; 吴荣负责审核.

通讯作者: 吴荣, 教授, 主任医师, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院肿瘤科.

wur@sj-hospital.org

电话: 024-96615-63211

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-28

Progress in research of hypoxia and angiogenesis in pancreatic cancer

Si-Liang Wang, Rong Wu

Si-Liang Wang, Rong Wu, Department of Medical Oncology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Rong Wu, Professor, Department of Medical Oncology, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. wur@sj-hospital.org

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-28

Abstract

Pancreatic cancer remains one of the most lethal solid tumors of the gastrointestinal tract. Hypoxia is the driving force behind angiogenesis in cancer. Angiogenesis is an essential factor for tumors to grow and metastasize. Studies in recent years have demonstrated that hypoxia and angiogenesis play important roles in the pathogenesis of pancreatic cancer. In this paper we will review recent advances in understanding the role of hypoxia and angiogenesis in the pathogenesis of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Hypoxia; Angiogenesis

Wang SL, Wu R. Progress in research of hypoxia and angiogenesis in pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3217-3221 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3217>

摘要

胰腺癌是胃肠道肿瘤中致死率最高的恶性肿瘤, 确诊时多为晚期, 预后差, 严重影响患者生活质量. 乏氧可以诱导肿瘤新生血管生成, 是肿瘤发生重要机制之一. 血管生成是实体肿瘤生长和转移的必要因素. 近些年大量研究表明乏氧和血管生成在胰腺癌的发病机制中起了重要的作用, 本文综述了两者与胰腺癌关系的研究进展.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; 乏氧; 血管生成

核心提示: 大量研究表明乏氧和血管生成在胰腺癌的发病机制中起了重要的作用, 本文综述了两者与胰腺癌关系的研究进展.

王思亮, 吴荣. 胰腺癌乏氧与血管生成的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3217-3221 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3217>

0 引言

胰腺癌是致死率最高的消化系统恶性肿瘤, 因其恶性程度高、放化疗抵抗、预后差, 在确诊时, 只有不到10%的胰腺癌是可以切除的, 5年存活率<5%^[1,2]. 此外胰腺癌显著降低临终患者生活质量, 常出现疼痛、疲劳、黄疸、营养不良、消化系统梗阻等^[3], 乏氧是实体瘤的一个重要病理特征, 是肿瘤细胞恶性增殖与血液供应失衡的结果^[4]. 近年来研究表明乏氧及血管的生成与胰腺肿瘤生长、发展、转移及耐药密切相关, 对于分子机制的深入研究, 有助于研发新的治疗手段. 现将胰腺癌乏氧引起的微环境的改变及血管生成的影响进行综述.

1 乏氧在胰腺癌发生中的作用

缺氧是促使肿瘤产生一系列适应性变化的始动因素, 研究表明当肿瘤生长超过2-3 mm时就会出现肿瘤细胞供血不足, 此后就必须依赖新生血管的形成才能得以维持肿瘤细胞继续生长^[5].

■背景资料

胰腺癌是致死率最高的消化系统恶性肿瘤之一, 恶性程度高、确诊时多为晚期, 预后差, 严重影响患者生活质量. 乏氧和肿瘤新生血管生成, 是肿瘤发生重要机制之一. 近些年大量研究表明乏氧和血管生成在胰腺癌的发病机制中起了重要的作用.

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■研发前沿

乏氧参与血管生成早期的触发和随后扩增,在胰腺癌的侵袭和转移中发挥重要的作用。对于胰腺肿瘤乏氧和血管生成相关分子机制的进一步研究有助于找寻治疗胰腺癌的新的治疗靶点。

微血管的主要功能就是为组织细胞提供氧和营养物质并带走代谢产物,但肿瘤血管的结构和功能异常、血管网的不均衡生长以及肿瘤细胞的不断增殖造成瘤体内一些低密度血管区域形成,由于氧的组织弥散直径仅为100-200 μm ,远离血管的区域就会发生慢性乏氧。又由于肿瘤血管内血流的不连续性,一些区域会经常得不到氧气供应,出现急性乏氧或灌注限制性乏氧。另外,瘤内血流灌注的不均匀性、无规则性、异常血管网以及氧供应和消耗的不平衡造成血液运输时间延长等,也会导致肿瘤组织乏氧^[6]。当肿瘤生长的速度超出了新生血管的生成速度就会导致乏氧,增殖的肿瘤细胞对高氧要求的迅速增加、淋巴引流不畅导致的间质渗透压的增到都会使得乏氧情况加剧^[7]。Thomlinson等^[8]在1955年首次提出实体肿瘤存在乏氧坏死现象的假设,随后乏氧被证实与肿瘤放、化疗抵抗及侵袭转移机制相关。Büchler等^[9]检测了胰腺癌组织中的氧分压,发现胰腺癌组织存在低氧微环境。Lau等^[10]发现胰腺癌细胞株中,缺氧可能通过激活核转录因子(nuclear factor- κB , NF- κB)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)途径增加了肿瘤细胞凋亡的抵抗。胰腺癌乏氧导致转录水平的改变,包括改变细胞代谢和刺激血管生成。

1.1 缺氧诱导因子-1 缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor, HIF-1)^[11]是1992年Semenza在低氧的肝细胞癌细胞株细胞核提取物中发现的一种蛋白质,由两个亚单位组成,一个120 kDa的 α 亚单位和一个91/93/94 kDa的 β 亚单位,其中HIF-1 α 是低氧诱导的,而HIF-1 β 属构成型表达,不受低氧诱导^[12]。其后,大量研究证实HIF-1 α 广泛存在于几乎所有实体肿瘤组织中,参与多种基因转录,编码促红细胞生成素、糖酵解酶、血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)、碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[13],这些基因产物在肿瘤细胞血管形成、能量代谢和肿瘤转移中起到重要作用。Sun等^[14]研究证实胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)组织中亦存在HIF-1 α 过表达,且其表达与淋巴结转移、临床病理分期有关。Hoffmann等^[15]检测了41例PDAC患者手术标本HIF-1 α 阳性率为87.1%,与预后有关。有临床研究证实HIF-1 α 表达与VEGF的表达、转移潜能、肿瘤大小及预后相关^[16]。在转录水平,发现胰腺癌细胞的HIF-

1 α mRNA表达上调,并且与VEGF mRNA的表达成正相关^[17]。因此HIF-1 α 促进胰腺癌肿瘤生长的一种机制可能是通过上调VEGF的表达,从而促进血管生成。已证实乏氧可以增加胰腺癌细胞运动因子的表达,这表明HIF-1 α 有可能参与细胞的侵袭和转移^[18]。但也有相反的研究报道。Zhu等^[19]检测了60例PDAC患者手术标本和正常胰腺组织内HIF-1 α 的表达,发现两者没有差异,并且PDAC患者手术标本中HIF-1 α 的表达与预后无关。

1.2 血红素加氧酶-1 HO可以分解血红素生成胆绿素、自由铁和一氧化碳,HO是此反应的限速酶和关键酶,有3个亚型,其中HO-1为诱导型,HO-2为结构型,HO-3与HO-2相似,但活性较弱。当细胞和组织处于溶血、炎症、氧化应激、热休克或缺氧等状态时,HO-1可作为一种保护性蛋白被诱导,对细胞损伤起到保护作用^[20,21]。因此,HO-1的高表达可能有利于保护肿瘤细胞和抗凋亡,提高了肿瘤细胞的存活率及抵抗各种治疗手段的能力,且HO-1能促进肿瘤血管生成,也就增强了肿瘤细胞的转移能力^[22]。有报道HO-1基因表达的重重复多态性是胰腺癌复发和生存的独立预后因素^[23,24]。将表达HO-1的胰腺癌细胞株转染到免疫缺失的小鼠,可以刺激血管形成和促进肿瘤的发展^[25]。

1.3 碳酸酐酶 碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)是第一个发现锌酶,也是最重要的锌酶。催化二氧化碳(碳酸酐)可逆的水合作用。因此,碳酸酐酶对于酸碱平衡和呼吸作用极为重要,已查明人类碳酸酐酶存在14种异构体^[26]。在乏氧环境下,活性的HIF-1 α 与HIF-1 β 结合形成完整的HIF-1蛋白,进入细胞核,结合到靶基因的缺氧反应元件(hypoxia responsive elements, HREs),促进靶基因表达,CA-IX就是其中的靶基因之一。CA-IX调控肿瘤细胞间的信息传递,通过和 β -catenin蛋白相互作用调节E-cadherin介导的细胞粘着^[27]。E-cadherin是重要的黏附因子,其功能丧失或不稳定与肿瘤的侵袭性有关。CA-IX的这个功能在乏氧诱导的肿瘤侵袭中发挥巨大的作用^[28]。CA-IX在人体内多数正常组织中没有表达或低表达,而在大多数肿瘤中有高表达。胰腺癌中有CA-IX的表达存在争议,胰腺组织存在CA-IX的高表达,而Juhász研究发现胰腺癌和正常癌旁组织间CA-IX的表达没有差异^[29],在肾癌研究者中CA-IX表达与微血管密度(microvessel density, MVD)具有相关性^[30],因

■相关报道

缺氧诱导因子-1(HIF-1 α)通过上调 VEGF 的表达,从而促进血管生成,刺激胰腺肿瘤的生长,参与细胞的侵袭和转移。VEGF表达与胰腺癌生存期和预后相关,是胰腺癌生长的重要细胞因子。

此CA-IX在胰腺癌乏氧与血管生成中的确切作用需要进一步研究。

2 血管生成在胰腺癌中的作用

新生血管生成是指在原有血管的基础上通过内皮细胞增殖、基底膜与细胞外基质降解、内皮细胞迁移、重构以“出芽”的方式形成新的毛细血管,有多种生长因子、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组分、蛋白水解酶和细胞黏附分子等因素参与血管生成的调控^[31]。尽管从CT影像上看胰腺癌是血管不丰富肿瘤,但他有重要的大血管供应,使得新生血管及微血管的增生成为胰腺癌增长及侵及的重要原因。MVD被认为是反映肿瘤血管生成的最有效的指标^[32]。已发现胰腺癌组织中MVD明显高于正常胰腺组,且高微血管密度与不良预后密切相关^[33,34]。高微血管密度也被证实与肿瘤转移风险增加有关。大量研究为胰腺癌确定血管生成相关的预后标志物的提供了依据^[35]。

2.1 血管内皮生长因子 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是1989年从牛垂体滤泡星状细胞培养液中分离纯化出来的一种糖蛋白,是血小板衍生生长因子家族的一个成员,可直接作用于血管内皮细胞而增加血管通透性促进血管内皮细胞增殖,在很多病理生理情况下的血管形成中发挥着重要作用^[36]。现已发现VEGF家族成员包括VEGF-A(即VEGF)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E以及胎盘生长因子和胎盘生长因子(PGF)。机体的低氧环境是诱导VEGF表达和分泌的主要刺激物,VEGF是已知最强的血管渗透剂,可增加微血管特别是增加毛细血管后静脉和小静脉的渗透性。研究认为,通过促进内皮细胞内囊泡的功能发挥渗透作用,这对于肿瘤营养,特别是在肿瘤缺氧微环境下的发生发展有重要作用^[37]。

VEGF-A(即VEGF)是目前研究最为深入的血管内皮生长因子。人VEGF-A基因定位于染色体6p21.3,编码相对分子质量为34-45 kDa的同源二聚糖蛋白,亚基之间通过二硫键结合形成二聚体,如果被还原则丧失所有的生物学功能。1993年, Brown等^[38]首次对单个胰腺癌标本进行免疫组织化学染色,发现了VEGF的表达,1997年, Itakura等^[39]检测了人类胰腺癌细胞系和组织学标本中VEGF的表达,发现胰腺癌组织中VEGF mRNA含量是正常胰腺组织的5倍以上,

75例患者中有64%的VEGF蛋白表达阳性。已证明胰腺细胞体外转染VEGF加速细胞增殖^[40],进一步动物研究表明胰腺肿瘤敲掉VEGF基因后增长受干扰且血管生成减少^[41]。VEGF表达与微血管密度、生存率、预后方面相关性研究仍存在争议,然而,大多证据表明VEGF在胰腺癌的生长中是重要的细胞因子^[42]。

2.2 胰岛素样生长因子与受体 胰腺癌的生物学行为与某些过度表达的生长因子及其受体相关,其中I型胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-I, IGF-I)和其受体(insulin-like growth factor-I receptor, IGF-IR)对胰腺癌发展的潜在作用是人们关注的焦点之一。IGF-I作为一种多肽与胰岛素的前体有结构上的同源性,具有促生长和代谢的作用^[43]。IGF-I通过自分泌或旁分泌形式在多种上皮和中胚层来源的癌起重要作用;这一作用依赖于细胞表面的特异性受体IGF-IR。IGF-IR具有酪氨酸激酶活性,是细胞增殖的强烈信号。已有报道IGF-IR和IGF-IR的mRNA在胰腺癌组织过度表达,且IGF-I和其受体IGF-IR在胰腺癌组织中过表达,与其侵略性相关并增加胰腺癌细胞的转移潜能^[44]。在其他研究中发现IGF-I和其受体IGF-IR通过上调VEGF表达在血管生成起重要的作用^[45]。

2.3 神经纤毛蛋白-1 神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP-1)为跨膜糖蛋白的一种,其胞内段仅存约40个氨基酸,由于缺乏可识别结构域,因此在肿瘤中,其主要作为血管内皮细胞表面VEGF共受体,起增强VEGF跟VEGF-2的结合能力和促进肿瘤血管生成的作用^[46]。最近研究发现,胰腺癌细胞株存在共受体表达。NRP-1 mRNA在胰腺癌中表达程度与相应的MVD值呈正相关,提示NRP-1可能参与了肿瘤血管的生成,在肿瘤发生、发展及血管生成中的作用有待进一步的研究^[47]。其他因子包括基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinases-3, MMP-3)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、碱性成纤维细胞生长因子、炎性细胞因子如白介素(interleukin, IL)-6、IL-8、IL-1 α 也已证明可以调节VEGF的表达,参与胰腺癌血管生成^[48-50]。

乏氧参与血管生成早期的触发和随后扩增,在胰腺癌的侵袭和转移中发挥重要的作用。了解胰腺肿瘤血管生成相关分子机制与过程将有助于找寻新的预后标志物和干预治疗的新靶点。治疗转移性胰腺癌的研究证实联合抗血管生成药物与常规化疗药物治疗胰腺癌是有效的。在

■创新盘点

目前关于胰腺癌乏氧和血管生成分子机制研究的综述很少,相关报道主要集中于其他实体肿瘤或某一单一机制的研究,本文首次对两者相关研究进行综述,为进一步探讨胰腺癌的发病机制奠定基础。

■应用要点

本文综述乏氧和血管生成在胰腺癌发病机制中的作用,可能为寻找胰腺癌的治疗提供新的治疗靶点。

这些领域的进一步研究可能为治疗这一“癌中之王”的提供新的希望。

3 参考文献

- 1 Strobel O, Hackert T, Hartwig W, Bergmann F, Hinz U, Wente MN, Fritz S, Schneider L, Büchler MW, Werner J. Survival data justifies resection for pancreatic metastases. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3340-3349 [PMID: 19777190 DOI: 10.1245/s10434-009-0682-3]
- 2 吕文超, 崔云甫. 胰腺癌流行病学和病因学研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2805-2809
- 3 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
- 4 Knowles HJ, Raval RR, Harris AL, Ratcliffe PJ. Effect of ascorbate on the activity of hypoxia-inducible factor in cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 1764-1768 [PMID: 12702559]
- 5 Toffoli S, Roegiers A, Feron O, Van Steenbrugge M, Ninane N, Raes M, Michiels C. Intermittent hypoxia is an angiogenic inducer for endothelial cells: role of HIF-1. *Angiogenesis* 2009; 12: 47-67 [PMID: 19184477 DOI: 10.1007/s10456-009-9131-y]
- 6 胡科综, 戈伟. 肿瘤血管网及微环境特点. *微循环学杂志* 2010; 20: 44-46
- 7 Giatromanolaki A, Harris AL. Tumour hypoxia, hypoxia signaling pathways and hypoxia inducible factor expression in human cancer. *Anticancer Res* 2001; 21: 4317-4324 [PMID: 11908686]
- 8 Thomlinson RH, Gray LH. The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer* 1955; 9: 539-549 [PMID: 13304213]
- 9 Büchler P, Reber HA, Büchler M, Shrinkante S, Büchler MW, Friess H, Semenza GL, Hines OJ. Hypoxia-inducible factor 1 regulates vascular endothelial growth factor expression in human pancreatic cancer. *Pancreas* 2003; 26: 56-64 [PMID: 12499918]
- 10 Lau ST, Lin ZX, Leung PS. Role of reactive oxygen species in brucein D-mediated p38-mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappaB signalling pathways in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Br J Cancer* 2010; 102: 583-593 [PMID: 20068565 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605487]
- 11 朱光辉, 岑刚, 黄陈, 张志华, 冯正中, 吕秀红, 裘正军. HIF-1 α 和EMT相关蛋白在胰腺癌组织中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2022-2030
- 12 Semenza GL, Jiang BH, Leung SW, Passantino R, Concordet JP, Maire P, Giallongo A. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1996; 271: 32529-32537 [PMID: 8955077]
- 13 Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell* 2010; 40: 294-309 [PMID: 20965423]
- 14 Sun HC, Qiu ZJ, Liu J, Sun J, Jiang T, Huang KJ, Yao M, Huang C. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and associated proteins in pancreatic ductal adenocarcinoma and their impact on prognosis. *Int J Oncol* 2007; 30: 1359-1367 [PMID: 17487356]
- 15 Hoffmann AC, Mori R, Vallbohmer D, Brabender J, Klein E, Drebbler U, Baldus SE, Cooc J, Azuma M, Metzger R, Hoelscher AH, Danenberg KD, Prenzel KL, Danenberg PV. High expression of HIF1a is a predictor of clinical outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinomas and correlated to PDGFA, VEGF, and bFGF. *Neoplasia* 2008; 10: 674-679 [PMID: 18592007]
- 16 Miyake K, Nishioka M, Imura S, Batmunkh E, Uto Y, Nagasawa H, Hori H, Shimada M. The novel hypoxic cytotoxin, TX-2098 has antitumor effect in pancreatic cancer; possible mechanism through inhibiting VEGF and hypoxia inducible factor-1 α targeted gene expression. *Exp Cell Res* 2012; 318: 1554-1563 [PMID: 22472348 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.03.013]
- 17 Melstrom LG, Salabat MR, Ding XZ, Strouch MJ, Grippo PJ, Mirzoeva S, Pelling JC, Bentrem DJ. Apigenin down-regulates the hypoxia response genes: HIF-1 α , GLUT-1, and VEGF in human pancreatic cancer cells. *J Surg Res* 2011; 167: 173-181 [PMID: 21227456 DOI: 10.1016/j.jss.2010.10.041]
- 18 Niizeki H, Kobayashi M, Horiuchi I, Akakura N, Chen J, Wang J, Hamada JJ, Seth P, Katoh H, Watanabe H, Raz A, Hosokawa M. Hypoxia enhances the expression of autocrine motility factor and the motility of human pancreatic cancer cells. *Br J Cancer* 2002; 86: 1914-1919 [PMID: 12085186]
- 19 Zhu DM, Li DC, Zhang ZX, Zhang XY. Effect of endothelial PAS domain protein 1 and hypoxia inducible factor 1alpha on vascular endothelial growth factor expression in human pancreatic carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 2258-2264 [PMID: 19080330]
- 20 Tauber S, Jais A, Jeitler M, Haider S, Husa J, Lindros J, Knöfler M, Mayerhofer M, Pehamberger H, Wagner O, Bilban M. Transcriptome analysis of human cancer reveals a functional role of heme oxygenase-1 in tumor cell adhesion. *Mol Cancer* 2010; 9: 200 [PMID: 20667089 DOI: 10.1186/1476-4598-9-200]
- 21 张健, 马德华, 朱成楚, 陈保富, 张波, 万雷. 血红素加氧酶-1在食管癌中的表达及与微血管生成的关系. *现代实用医学* 2012; 24: 250-252
- 22 Was H, Dulak J, Jozkowicz A. Heme oxygenase-1 in tumor biology and therapy. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1551-1570 [PMID: 20704546]
- 23 Vashist YK, Uzungolu G, Kutup A, Gebauer F, Koenig A, Deutsch L, Zehler O, Busch P, Kalinin V, Izbicke JR, Yekebas EF. Heme oxygenase-1 germ line GTn promoter polymorphism is an independent prognosticator of tumor recurrence and survival in pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2011; 104: 305-311 [PMID: 21495030 DOI: 10.1002/jso.21926]
- 24 Nuhn P, Künzli BM, Hennig R, Mitkus T, Ramanauskas T, Nobiling R, Meuer SC, Friess H, Berberat PO. Heme oxygenase-1 and its metabolites affect pancreatic tumor growth in vivo. *Mol Cancer* 2009; 8: 37 [PMID: 19508729 DOI: 10.1186/1476-4598-8-37]
- 25 Sunamura M, Duda DG, Ghattas MH, Lozonoschi L, Motoi F, Yamauchi J, Matsuno S, Shibahara S, Abraham NG. Heme oxygenase-1 accelerates tumor angiogenesis of human pancreatic cancer. *Angiogenesis* 2003; 6: 15-24 [PMID: 14517400]
- 26 McDonald PC, Winum JY, Supuran CT, Dedhar S. Recent developments in targeting carbonic anhydrase IX for cancer therapeutics. *Oncotarget* 2012; 3: 84-97 [PMID: 22289741]
- 27 Pastorekova S, Zatovicova M, Pastorek J. Cancer-associated carbonic anhydrases and their inhibition. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 685-698 [PMID: 18336315]
- 28 Kaluz S, Kaluzová M, Liao SY, Lerman M, Stan-

- bridge EJ. Transcriptional control of the tumor- and hypoxia-marker carbonic anhydrase 9: A one transcription factor (HIF-1) show? *Biochim Biophys Acta* 2009; 1795: 162-172 [PMID: 19344680 DOI: 10.1016/j.bbcan.2009.01.001]
- 29 Juhász M, Chen J, Lendeckel U, Kellner U, Kasper HU, Tulassay Z, Pastorekova S, Malfertheiner P, Ebert MP. Expression of carbonic anhydrase IX in human pancreatic cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 837-846 [PMID: 14535878]
 - 30 Rasheed S, Harris AL, Tekkis PP, Turley H, Silver A, McDonald PJ, Talbot IC, Glynn-Jones R, Northover JM, Guenther T. Assessment of microvessel density and carbonic anhydrase-9 (CA-9) expression in rectal cancer. *Pathol Res Pract* 2009; 205: 1-9 [PMID: 19008051 DOI: 10.1016/j.prp.2008.08.008]
 - 31 Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257 [PMID: 11001068]
 - 32 许进, 夏潮涌, 周序琰, 杜洪. 实体肿瘤组织微血管计数方法的探讨. *中华病理学杂志* 2005; 34: 111-112
 - 33 Giannopoulos G, Kavantzias N, Parasi A, Tiniakos D, Peros G, Tzanakis N, Patsouris E, Pavlakis K. Morphometric microvascular characteristics in the prognosis of pancreatic and ampullary carcinoma. *Pancreas* 2007; 35: 47-52 [PMID: 17575545]
 - 34 陆勇, 宋卫峰, 许志伟, 陈克敏. 胰腺癌的CT影像表现与临床病理因素及血管生成的关系. *临床放射学杂志* 2007; 26: 153-157
 - 35 van der Zee JA, van Eijck CH, Hop WC, van Dekken H, Dicheva BM, Seynhaeve AL, Koning GA, Eggermont AM, ten Hagen TL. Angiogenesis: a prognostic determinant in pancreatic cancer? *Eur J Cancer* 2011; 47: 2576-2584 [PMID: 21958461 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.08.016]
 - 36 Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2039-2049 [PMID: 18463380 DOI: 10.1056/NEJMra0706596]
 - 37 Abdullah SE, Perez-Soler R. Mechanisms of resistance to vascular endothelial growth factor blockade. *Cancer* 2012; 118: 3455-3467 [PMID: 22086782 DOI: 10.1002/cncr.26540]
 - 38 Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 1993; 53: 4727-4735 [PMID: 8402650]
 - 39 Itakura J, Ishiwata T, Friess H, Fujii H, Matsumoto Y, Büchler MW, Korc M. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer correlates with local disease progression. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1309-1316 [PMID: 9815813]
 - 40 Dineen SP, Lynn KD, Holloway SE, Miller AF, Sullivan JP, Shames DS, Beck AW, Barnett CC, Fleming JB, Brekken RA. Vascular endothelial growth factor receptor 2 mediates macrophage infiltration into orthotopic pancreatic tumors in mice. *Cancer Res* 2008; 68: 4340-4346 [PMID: 18519694 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6705]
 - 41 Beckermann BM, Kallifatidis G, Groth A, Frommhold D, Apel A, Mattern J, Salnikov AV, Moldenhauer G, Wagner W, Diehlmann A, Saffrich R, Schubert M, Ho AD, Giese N, Büchler MW, Friess H, Büchler P, Herr I. VEGF expression by mesenchymal stem cells contributes to angiogenesis in pancreatic carcinoma. *Br J Cancer* 2008; 99: 622-631 [PMID: 18665180 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604508]
 - 42 Matthaios D, Zarogoulidis P, Balgouranidou I, Chatzaki E, Kakolyris S. Molecular pathogenesis of pancreatic cancer and clinical perspectives. *Oncology* 2011; 81: 259-272 [PMID: 22116519 DOI: 10.1159/000334449]
 - 43 Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M, Beger HG, Korc M. Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. *Cancer Res* 1995; 55: 2007-2011 [PMID: 7743492]
 - 44 El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Zaghloul AS, Sallam AM. Clinical value of circulating lipocalins and insulin-like growth factor axis in pancreatic cancer diagnosis. *Pancreas* 2013; 42: 149-154 [PMID: 22617715 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182550d9d]
 - 45 Moser C, Schachtschneider P, Lang SA, Gaumann A, Mori A, Zimmermann J, Schlitt HJ, Geissler EK, Stoeltzing O. Inhibition of insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) using NVP-AEW541, a small molecule kinase inhibitor, reduces orthotopic pancreatic cancer growth and angiogenesis. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1577-1586 [PMID: 18445520 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.04.003]
 - 46 Jubb AM, Strickland LA, Liu SD, Mak J, Schmidt M, Koeppen H. Neuropilin-1 expression in cancer and development. *J Pathol* 2012; 226: 50-60 [PMID: 22025255 DOI: 10.1002/path.2989]
 - 47 Parikh AA, Liu WB, Fan F, Stoeltzing O, Reinmuth N, Bruns CJ, Bucana CD, Evans DB, Ellis LM. Expression and regulation of the novel vascular endothelial growth factor receptor neuropilin-1 by epidermal growth factor in human pancreatic carcinoma. *Cancer* 2003; 98: 720-729 [PMID: 12910515 DOI: 10.1002/cncr.11560]
 - 48 李春龙, 崔云甫, 杜雪飞, 邵升. MMP-3和VEGF在胰腺癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2011; 15: 1574-1578
 - 49 Hillion J, Smail SS, Di Cello F, Belton A, Shah SN, Huso T, Schuldenfrei A, Nelson DM, Cope L, Campbell N, Karikari C, Aderinto A, Maitra A, Huso DL, Resar LM. The HMGA1-COX-2 axis: a key molecular pathway and potential target in pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatol* 2012; 12: 372-379 [PMID: 22898640 DOI: 10.1016/j.pan.2012.05.005]
 - 50 Bao B, Ali S, Ahmad A, Azmi AS, Li Y, Banerjee S, Kong D, Sethi S, Aboukameel A, Padhye SB, Sarkar FH. Hypoxia-induced aggressiveness of pancreatic cancer cells is due to increased expression of VEGF, IL-6 and miR-21, which can be attenuated by CDF treatment. *PLoS One* 2012; 7: e50165 [PMID: 23272057 DOI: 10.1371/journal.pone.0050165]

同行评价

本文综述了乏氧和血管生成在胰腺癌发病机制中的作用, 对胰腺癌的相关研究有一定参考价值, 信息量大。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



粪菌移植: 公元4世纪至2013年

崔伯塔, 王敏, 季国忠, 范志宁, 张发明

■背景资料

人离不开肠道菌群而存在,但是人类对其认知尚少。粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)近年引起全世界的关注并挽救了数以万计的生命。发展标准化FMT是本领域的重要任务。

崔伯塔, 王敏, 季国忠, 范志宁, 张发明, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

崔伯塔, 医师, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由崔伯塔与王敏完成; 季国忠、范志宁及张发明负责审校。

通讯作者: 张发明, 副教授, 硕士生导师, 210011, 江苏省南京市姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所. fzhang@njmu.edu.cn
电话: 025-58509883

收稿日期: 2013-07-12 修回日期: 2013-07-25

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-28

Fecal microbiota transplantation: from the 4th century to 2013

Bo-Ta Cui, Min Wang, Guo-Zhong Ji, Zhi-Ning Fan, Fa-Ming Zhang

Bo-Ta Cui, Min Wang, Guo-Zhong Ji, Zhi-Ning Fan, Fa-Ming Zhang, Institute of Digestive Endoscopy & Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Fa-Ming Zhang, Associate Professor, Institute of Digestive Endoscopy & Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. fzhang@njmu.edu.cn

Received: 2013-07-12 Revised: 2013-07-25

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-28

Abstract

Intestinal microbiota has been defined as a dynamic human organ. Many diseases occur as a result of the disorder of intestinal microbiota. Human fecal microbiota transplantation (FMT), which was originally reported in China in the 4th century, has become popular in recent years, since it shows an amazing effect in the treatment of pseudomembranous colitis and recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI). It has not only been proposed as a first-line treatment for recurrent CDI but also been utilized to treat inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, metabolic syndrome, and chronic fatigue syndrome. The mechanism behind the therapeutic effects of FMT is still unclear. The most widely accepted hypothesis is that FMT can use the whole intestinal microbiota from a

healthy donor to replace the patient's disordered gut microbiota. At present, FMT is still in the beginning stage, and there is an urgent need to develop standardized protocols and to conduct safety analysis. This review tries to present the past, present and future of FMT by introducing the relationship between gut flora and diseases and the utilization of FMT.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Fecal microbiota transplantation; Recurrent *Clostridium difficile* infection; Inflammatory bowel disease; Intestinal microbiota

Cui BT, Wang M, Ji GZ, Fan ZN, Zhang FM. Fecal microbiota transplantation: from the 4th century to 2013. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3222-3229
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3222.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3222>

摘要

肠微生态是人的一个特殊器官,肠微生态失常与肠内外多种疾病密切相关。一种将健康人肠道功能菌群分离后移植到患者肠道内,通过重建患者肠道菌群而治病的方法,被称为粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)。虽然FMT起源于中国公元400年前,但是,时至近年才受到广泛关注。尽管其已经于2013年写入难辨梭状芽孢杆菌感染的临床治疗指南,还用于治疗炎症性肠病、免疫缺陷性肠病、代谢综合征等,但有关其机制、技术标准化、安全性评估等方面尚处于起步阶段。本文就肠道菌群与疾病、FMT的起源和发展、FMT的前景等进行综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 粪菌移植; 难辨梭状芽孢杆菌; 炎症性肠病; 肠微生态

核心提示: 本文系统回顾了粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)的医学史、临床应用、存在的问题、中国对标准化FMT的贡献,展示了本领域的研究方向。

■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

崔伯塔, 王敏, 季国忠, 范志宁, 张发明. 粪菌移植: 公元4世纪至2013年. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3222-3229 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3222.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3222>

0 引言

人的肠道微生态系统极其复杂, 一个健康人的肠道内约存在1000-1150种细菌^[1], 总数达到100万亿左右^[2]. 肠道菌群参与维持肠道的正常生理功能和机体免疫功能^[3]. 然而, 人类肠道菌群的组成因遗传、生活环境、饮食习惯和抗生素使用等因素的影响而存在个体差异和地域差别^[4-8]. 这是人类至今对其认知尚少的主要原因.

正常状态下, 肠道微生物在各种反馈作用机制的调节下维持肠道微生态系统的多样性和稳定性. 研究发现, 相比于人体其他部位(皮肤、口腔), 肠道菌群的组成能长期保持相对稳定^[9,10]. 肠道菌群的多样性受遗传、饮食、年龄、环境、区域差异和抗生素使用等因素的影响, 当肠道细菌的多样性下降会破坏菌群的稳定性. 如长期的高糖高脂饮食或使用抗生素会降低肠道菌群的多样性, 导致肠道菌群紊乱, 进而引发相关疾病^[4,6,7]. 目前研究发现, 肠道菌群紊乱与多种肠道和肠道外疾病相关^[11], 如炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)^[12,13]、肠易激综合征^[14,15]、肥胖^[16]、代谢综合征^[17]、神经系统紊乱^[18]、慢性疲劳综合征^[19]、免疫系统疾病^[20]、肿瘤等^[21](表1). 尽管在某些疾病中已经发现肠道菌群会发生特异性的改变(某些严重的肠道疾病、肿瘤和肥胖)^[11], 但由于个体肠道菌群的多样性及其他微生物、化学物质的存在, 很难在疾病和特异性菌群改变之间建立明确的因果关系. 不过基于对“肠道菌群紊乱在疾病发生中作用”的认识, 医生们产生了用健康人肠道细菌来治疗人类疾病的想法. 1958年, 美国的Ben Eiseman医生及其同事首次用健康人的粪便成功治愈了4例严重的伪膜性肠炎患者^[22], 开启了现代医学关于粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)的新篇章.

本文从起源、发展和应用几个方面, 对FMT的研究现状进行全面综述, 并提出目前FMT发展存在的问题和下一步的发展前景.

1 FMT的起源与发展

追溯FMT的起源, 最早用于治疗人类疾病疾病的文字记载是中国东晋时期(公元300-400年)葛

表 1 肠道菌群紊乱相关的疾病^[21]

肠道疾病	非肠道疾病
胆石症	关节炎
结肠癌	哮喘
肝性脑病	先天性过敏症
突发性便秘 ^[16]	自闭症 ^[23,24]
肠易激综合征 ^[14,15]	自身免疫紊乱 ^[20]
炎症性肠病 ^[12,13]	慢性疲劳综合征 ^[19]
家庭性地中海热	糖尿病和胰岛素抵抗 ^[17]
胃癌和淋巴瘤	湿疹
复发性难辨梭状杆菌感染 ^[25]	脂肪肝
	肌纤维痛
	枯草热
	高胆固醇血症
	特发性血小板减少性紫癜 ^[20]
	缺血性心脏病
	代谢综合征 ^[17]
	心境障碍
	多发性硬化 ^[26]
	肌肉震颤遗传综合征 ^[27]
	肥胖 ^[16]
	草酸肾结石
	帕金森病 ^[18]

洪所著的《肘后备急方》(也称《肘后方》), 文中描述用人粪清治疗食物中毒、腹泻、发热并濒临死亡的患者, “饮之, 即活”^[28]. 中国明代李时珍所著的《本草纲目》(1596年版)记载了多达二十多种用人粪治病的疗法^[29]. 尽管那时世人还不知道细菌, 但已经运用新鲜的粪水、发酵的粪水等含有大量活菌的物质来治病. 中国传统医学中, 此类应用并非罕见, 但是由于近几十年国家中医药相关法规对中药卫生方面的要求, 利用人粪入药已经被不断更新的国家药典书籍删除, 不过, 不少中国高龄的民间医生都熟悉此类疗法. 在西方医学中关于粪便治疗疾病的记载最早出现于1697年, 由一位叫Franz Paullini的德国医生所著的书《Heilsame Dreck-Apotheke》, 该书收集了众多用人或动物的粪便来治疗各种疾病的方法, 重点介绍粪便广泛的医用价值, 包括从头到脚所有可能的应用^[30,31]. 近代关于FMT的文献报道可以追溯到1958年, 美国科罗拉多大学医学院外科医生Ben Eiseman及其同事^[22], 利用健康人的大便制成粪水对4例常规抗生素、激素治疗无效的严重伪膜性肠炎患者实施灌肠. 结果成功治愈其中3例垂危患者, 另1例患者死于与肠道感染无关的其他疾病. 但由于种种原因, 在这之后的二十年, FMT并没能

■ 研发前沿

本文系统回顾了FMT的临床应用历史和现状, 重点强调标准化FMT(包括粪菌库)、肠道宏基因组研究的需要和前景.

■相关报道

本文再现了FMT的医学史,全面展示了FMT在临床上的一些里程碑式的应用。SMT的应用和概念为读者带来了更多的启示。

到很好的发展。直到1978年,难辨梭状芽孢杆菌感染(*clostridium difficile* infection, CDI),被认为是腹泻和伪膜性肠炎的主要原因,用粪菌治病的方法才逐渐得到重视。1981年美国Bowden等^[32]报道用经小肠置管输入粪液的方法,成功治愈16例伪膜性肠炎患者;1983年,瑞典的Schwan等^[25]在《柳叶刀》发文,用粪便菌液对复发性CDI患者进行直肠灌肠,获得很好的疗效,这是FMT首次用于治疗CDI患者。目前FMT已经在美国、加拿大、澳大利亚、荷兰和英国等国家广泛开展^[33]。2012年10月南京医科大学第二附属医院消化医学中心的张发明及其同事成功将FMT标准化(包括菌群分离的标准化、移植前后的准备流程等),用于难治性IBD等复杂肠病的挽救治疗,并在美国临床试验网站(www.clinicaltrials.gov)注册了3项临床试验(NCT01790061、NCT01790711、NCT01793831)。

FMT的最新医学史由张发明等^[34]在*American Journal of Medicine*发表,并已经被*New England Journal of Medicine*等杂志^[21,35,36]引用。尽管FMT起源于1700年前,但其发展最快的却是最近3年。在中国现代医学史上,倡导标准化、人性化的FMT始于2012年,相关文献^[33,34,37-39]和临床试验随之逐渐出现。2013年初,FMT治疗方案被列入美国治疗CDI的临床指南。然而就在医学界和遭受疾病困扰的患者对FMT充满期待之际,2013-05-02,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的一项规定对FMT的发展产生一定的影响。美国生物制品评价与研究中心(Center for Biologics Evaluation and Research, CBER)将FMT定义为生物产品和药品,归属FDA管理。尽管FDA批准将FMT用于治疗复发性CDI,但这一定义意味着如果要进行FMT治疗,医生必须先提交研究性新药(investigational new drug, IND)申请,注明具体操作步骤,纳入和排除标准、治疗过程中不良反应的处理等,等待FDA的批准,这一周期约需30个工作日^[40]。虽然FDA允许在特殊情况下通过电话申请紧急FMT治疗,不过在大多数的临床医生看来,这很大程度上阻碍了FMT的运用和发展。在2013-05下旬的美国消化病周(Digestive Disease Week, DDW)期间,在一个FMT的专场会议上,来自美、欧、亚等专家对此进行了群情激奋的讨论。不过,如果换个角度思考FDA的这一决定,该规定表明FDA已经认可FMT在治疗人类疾病的疗效,只是需要进一步的证

据来证明该产品的安全性以及可能产生的不良反应,可以视为鼓励进一步深入探讨和了解FMT的举措。

2 FMT的应用

自从1958年美国科罗拉多大学医学院Ben Eisman医生及其同事开展了FMT以来,迄今已经有大量临床研究报道利用FMT治疗多种疾病(表2),包括伪膜性肠炎^[22,32,41]、慢性便秘与IBD^[13]、难辨梭状芽孢杆菌性肠炎^[42,43]等胃肠道疾病,以及肠道外疾病,如代谢综合征^[17]、慢性疲劳综合征^[19]、代谢性酸中毒^[44]、多发性硬化^[26]等。

2.1 FMT与CDI 据统计美国医院每年新发CDI的病例50-70万^[48]。一线治疗措施如甲硝唑、万古霉素治疗后,CDI的首次复发率为15%-30%,二次复发率达到40%,三次复发率则达到65%^[49,50]。CDI的高复发率促使人们尝试寻求新的治疗措施,1983年Schwan医生首次利用FMT成功治愈难治性CDI肠炎的患者。目前FMT因其明显高于传统的万古霉素治疗的治愈率和低复发率,已经被广泛用于救治复发性CDI^[25]。据统计,截止2012年,有十几项研究报告均报道FMT能有效治疗复发性或慢性CDI,经FMT治疗的CDI病例已超过500例^[51,52],有效率达95%^[52]。最近一项针对FMT用于治疗CDI的多样本、系统性调查研究表明在对70例CDI患者行经结肠灌注的FMT治疗后,治愈66例,治愈率达94%^[53]。2013年*New England Journal of Medicine*发表了第一项利用FMT治疗复发性CDI的临床对照研究,该研究将42例RCDI患者随机分成3组,分别接受标准14 d 500 mg万古霉素治疗,口服4次/d;标准万古霉素治疗加肠道灌洗;4 d 500 mg万古霉素治疗,口服4次/d,加肠道灌洗,继而经鼻十二指肠管行FMT治疗。以艰难梭菌感染引起的腹泻终止,10 wk内无复发为试验主要终点。该实验中期分析结果显示,FMT治疗组的16例患者中,有13例在接受第1次FMT后便治愈,剩下的3例在接受第2次FMT后,有2例治愈,治愈率达到94%;相比之下,万古霉素单药的治疗13例患者中只有4例感染被清除,成功率为31%。而万古霉素加灌洗组成功率仅为23%^[54]。但该实验被医学伦理委员会提前终止。由于FMT对RCDI的高治愈率,目前已有医生建议将FMT作为治疗严重难辨梭状芽孢杆菌感染的一线疗法^[55]。2013年,美国CDI治疗指南将FMT治疗推荐用于第3次复发患者^[47]。

表 2 粪菌移植用于治疗人类疾病代表性文献

时间(年)	作者	事件	途径(n)	结果	文献
东晋300-400	葛洪 ^[28]	用“粪清”治疗中毒、腹泻	口服	垂死患者“即活”	肘后备急方
明 1596	李时珍 ^[29]	用“粪清, 发酵粪液或婴儿粪液”治疗腹泻、发热、便秘	口服	“奇效”或未载	本草纲目
1697	Appell等 ^[30,31]	收集多种用人和动物粪便治疗疾病的方法	口服	未载	Heilsame Dreck-Apotheke
1958	Eiseman等 ^[22]	用于治疗伪膜性肠炎	灌肠(4)	3例治愈, 1例死于非相关疾病	Surgery
1977	van der Waaij等 ^[45]	抗菌净化后再植入	口服(6)		Am J Clin Nutr
1980	Schoore等 ^[44]	代谢性酸中毒	口服(1)	治愈	Arch Dis Child
1981	Bowden等 ^[32]	伪膜性肠炎	小肠管(16)	治愈	Am Surg
1983	Schwan等 ^[25]	难辨梭状芽孢杆菌感染性肠炎	直肠灌肠	治愈	Lancet
1989	Bennet等 ^[41]	治疗溃疡性结肠炎	灌肠(1)	治愈	Lancet
1989	Borody等 ^[13]	治疗慢性便秘、肠易激综合征	肠镜(54)	20例治愈(20/55), 9改善(9/55), 26失败(26/55)	Med J Aust
2003	Aas等 ^[42]	治疗复发性难辨梭状芽孢杆菌性肠炎	鼻胃管(18)	15治愈(15/18)	Clin Infec Dis
2011	Borody等 ^[26]	多发性硬化经过5次FMT治疗	结肠(1)	明显改善	Am J Gastroenterol
2012	Vrieze等 ^[17]	治疗代谢综合征	十二指肠管(8)	胰岛素敏感性提高	Gastroenterology
2012	Borody等 ^[46]	慢性疲劳综合征	结肠(60)	70%治愈率	2012年ACG年会报告
2012	Hamilton等 ^[43]	首次用标准冻存粪菌治疗复发性难辨梭状芽孢杆菌性肠炎	肠镜(43)	95%治愈	Am J Gastroenterol
2013	Surawicz等 ^[47]	复发性难辨梭状芽孢杆菌性肠炎	内镜	首次写入指南	Am J Gastroenterol
2013	Vrieze等 ^[17]	首次FMT治疗复发性难辨梭状芽孢杆菌性肠炎的对照试验	十二指肠(46)	治愈率94%	N Engl J Med

■应用要点

本文对FMT的综述有重要的临床指导意义。

2.2 FMT与IBD IBD包括克罗恩病和溃疡性结肠炎, 目前发病机制仍不清楚。有研究认为克罗恩病的发病可能与副结核分枝杆菌和侵袭性大肠杆菌^[14]等特殊细菌感染有关。但溃疡性结肠炎病例中尚未分离出特异性的感染源。另一种假说认为, IBD因具有遗传倾向性的宿主受到肠道内非致病性共生菌抗原的长期刺激, 肠道发生持续的免疫系统超敏反应, 导致肠道内环境失衡和致肠道菌群的紊乱所致^[14,56]。研究表明, IBD患者肠道内菌群多样性下降约30%-50%^[56,57]。

但到目前为止, FMT用于治疗IBD的报道很少。自1989年Bennet首次成功治愈一例严重的溃疡性结肠炎患者以来, 共报道9例溃疡性结肠炎患者经FMT治疗, 6 wk内痊愈且无复发。经13年的随访和结肠镜检查, 其中6例无复发, 2例仅有轻微的慢性炎症^[13,57,58-60]。FMT报道用于治疗克罗恩病的仅有1例, 在常规泼尼松和柳氮磺胺

吡啶治疗无效后尝试FMT治疗, 3 d内得到有效缓解, 但在第18个月复发^[60]。此外Brandt在ACG 2012年会上的报告显示, 8例溃疡性结肠炎患者经结肠内镜下行FMT治疗后, 以粪便灌肠作为维持治疗, 结果7例的粪便频次和腹痛有明显改善。但个体的缓解程度差异较大, 其中伴随CDI感染的病例(3例)、最新诊断为溃疡性结肠炎且刚开始使用抗生素的病例(1例)以及那些肠道能更好地滞留灌肠剂的患者, FMT治疗的效果更明显^[61]。

FMT可以有效地治疗溃疡性结肠炎, 但是可能需要经过多次FMT来维持疗效。另外FMT可能对因使用抗生素或因肠道内感染所致肠道菌群紊乱的结肠炎更有效。目前FMT对IBD的治疗还处于起步阶段, 需要大量的工作如临床对照试验来验证。南京医科大学第二附属医院的复杂肠病中心首次利用标准化经中消化道

■同行评价

本文全面综述了FMT在临床疾病治疗中的历史发展、临床应用、适应症以及作用机制,具有一定指导意义。

FMT治疗难治性溃疡性结肠炎和克罗恩病患者(NCT01790061、NCT01793831),前期结果充分显示临床起效迅速,长期疗效也鼓舞人心(待发表)。

2.3 FMT与肠易激综合征和慢性便秘 肠易激综合征的发病被认为与急性胃肠炎所致的胃肠内菌群改变有关。研究表明以便秘为主要症状的肠易激综合征患者肠道内硫酸盐还原菌的数量明显上升^[62]。1989年, Borody医生报道了首次通过肠镜FMT治疗55例肠易激综合征和慢性便秘患者,其中20例治愈, FMT的治愈率达到36%; 9例有症状明显改善, 占16%; 治疗失败的为26例, 占47%。在另一份系列病案报告中, 45例慢性便秘的病例通过结肠镜行FMT治疗后, 40例(89%)患者的排便、腹胀和腹痛立刻缓解。在对其中的30例进行随访后发现, 18例在9-18 mo后仍能在不需要泻药的帮助下正常排便^[63]。

2.4 FMT与其他肠病及肠外疾病 肠道菌群的紊乱除可以导致肠道内疾病外还与多种肠道外疾病相关, 或者肠内外疾病导致肠道菌群异常, 进而加重原有疾病或导致新的相关疾病。目前已报道的可以用FMT治疗的肠道外疾病包括自身免疫性疾病(如特发性血小板减少性紫癜^[20]、多发性硬化、肌张力障碍), 神经系统疾病(如帕金森病)^[18]、自闭症^[24]、慢性疲劳综合征^[9]、代谢综合征和肥胖等^[17](表2), 但由于很多报道仅是病例报告, 其具体的有效性还需要大量的临床随机对照试验来验证。我们的临床试验(NCT01790711)也发现对提高胰岛素敏感性有明显疗效, 还用FMT成功治疗顽固性老年便秘、糖尿病合并神经病变、难治性显微镜下肠炎、难治性肠功能紊乱、嗜酸性粒细胞肠炎、放射性肠炎等。

3 结论

迄今为止, FMT的发展尚处于起步阶段, 其具体作用机制尚不清楚。目前普遍被接受的观点认为, FMT主要是功能菌群移植, 利用健康人群的肠道菌群重建肠道微生态环境的稳态, 以达到治病的目的^[37]。不过最近有新的观点认为, FMT的作用机制可能是一种冲击治疗, 通过一次性大量植入外源性健康菌群, 冲击患者肠道内紊乱菌群, 在供体健康菌群的诱导下, 促进受体肠道菌群恢复正常^[64]。我们目前还没法证明哪种假说更准确, 但毫无疑问只有彻底探明FMT的作用机制, 才能更好地指导FMT治疗。目前很多

课题组正在为此而努力, 南京医科大学第二附属医院复杂肠病团队收集了患者在FMT治疗前和治疗后的粪便和体液标本, 通过宏基因组的检测, 分析前后菌群的结构和数量的变化, 期望查明FMT在治疗炎症性肠病患者中的作用机制。尽管FMT已经被用于RCDI、IBD、IBS等疾病的治疗, 并取得良好疗效, 但由于FMT过去的发展根本上受限于没有标准化的方法和系统的流程。经过研究, 我们已经建立了从供受体的筛选、菌群分离、移植途径、移植量、移植术前和术后的流程等规范化方案, 还建立了中国第一个粪菌库。

随着全世界对FMT的重视, FMT将会得到更为迅速的发展。最近, Petrof等^[65]从健康人粪便分离出的33种细菌, 培养后制成细菌混合物, 利用常规FMT途径成功治愈两例RCDI患者, 揭示用粪人工组合菌群治疗(synthetic microbiota transplantation, SMT)代替FMT的可能性。如果可以通过人工培养特定的细菌, 并组合成最佳比例和数量级的菌群, 实现标准化SMT, 不但可以确保细菌来源的安全性和可控性, 进行有效质控, 减少供体筛查环节, 同时还可以将人工合成的细菌做成冻干粉或胶囊, 以处方药的形式直接口服或经内镜直接输入肠道。因此, SMT将是FMT或者肠道菌群干预治疗的重要发展方向。基于FMT的疗效带给科学家的启示和肠道菌群宏基因组的研究, 发现和开发新的菌群干预靶标或途径, 也是一个重要的新技术转化领域。无论是既往存在、还是新兴的益生菌制药企业, 相关研发与市场竞争, 已是暗流涌动。

4 参考文献

- 1 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65 [PMID: 20203603 DOI: 10.1038/nature08821]
- 2 Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6578-6583 [PMID: 9618454 DOI: 10.1073/pnas.95.12.6578]
- 3 Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the

- human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-230 [PMID: 22972295 DOI: 10.1038/nature11550]
- 4 Dicksved J, Halfvarson J, Rosenquist M, Järnerot G, Tysk C, Apajalahti J, Engstrand L, Jansson JK. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. *ISME J* 2008; 2: 716-727 [PMID: 18401439 DOI: 10.1038/ismej.2008.37]
- 5 Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-484 [PMID: 19043404 DOI: 10.1038/nature07540]
- 6 Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuczynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486: 222-227 [PMID: 22699611 DOI: 10.1038/nature11053]
- 7 De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, Collini S, Pieraccini G, Lionetti P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 14691-14696 [PMID: 20679230 DOI: 10.1073/pnas.1005963107]
- 8 Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334: 105-108 [PMID: 21885731 DOI: 10.1126/science.1208344]
- 9 Rajilić-Stojanović M, Heilig HG, Tims S, Zoetendal EG, de Vos WM. Long-term monitoring of the human intestinal microbiota composition. *Environ Microbiol* 2012 Oct 15. [Epub ahead of print] [PMID: 23286720 DOI: 10.1111/1462-2920.12023]
- 10 Caporaso JG, Lauber CL, Costello EK, Berg-Lyons D, Gonzalez A, Stombaugh J, Knights D, Gajer P, Ravel J, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biol* 2011; 12: R50 [PMID: 21624126 DOI: 10.1186/gb-2011-12-5-r50]
- 11 de Vos WM, de Vos EA. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutr Rev* 2012; 70 Suppl 1: S45-S56 [PMID: 22861807 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00505.x]
- 12 Reddy SS, Brandt LJ. Clostridium difficile Infection and Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 666-671 [PMID: 23507767 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31828b288a]
- 13 Borody TJ, George L, Andrews P, Brandt S, Noonan S, Cole P, Hyland L, Morgan A, Maysey J, Moore-Jones D. Bowel-flora alteration: a potential cure for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome? *Med J Aust* 1989; 150: 604 [PMID: 2783214]
- 14 Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010; 90: 859-904 [PMID: 20664075 DOI: 10.1152/physrev.00045.2009]
- 15 Ringel Y, Quigley EMM, Lin HC. Using probiotics in gastrointestinal disorders. *Am J Gastroenterol* 2012; Suppl 1: 34-40 [DOI: 10.1038/ajgsup.2012.7]
- 16 Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031 [PMID: 17183312 DOI: 10.1038/nature05414]
- 17 Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojarvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druesne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Stoes ES, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913-916. e7 [PMID: 22728514 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.031]
- 18 Anathaswamy A. Faecal transplant eases symptoms of Parkinson's. *New Scientist* 2011; 209: 8-9
- 19 Borody T. Bacteriotherapy for chronic fatigue syndrome: a long-term followup study. 1995 CFS National Consensus Conference, 1995
- 20 Borody TJ, Campbell JL, Torres M, Nowak A, Leis SM. Reversal of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) with fecal microbiota transplantation (FMT) [abstract]. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: S352
- 21 Brandt LJ, Aroniadis OC. An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 240-249 [PMID: 23642791]
- 22 Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; 44: 854-859 [PMID: 13592638]
- 23 Tjandra JJ, Street A, Thomas RJ, Gibson R, Eng P, Cade J. Fatal Clostridium difficile infection of the small bowel after complex colorectal surgery. *ANZ J Surg* 2001; 71: 500-503 [PMID: 11504300 DOI: 10.1046/j.1440-1622.2001.02083.x]
- 24 Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, McTeague M, Sandler R, Wexler H, Marlowe EM, Collins MD, Lawson PA, Summanen P, Baysallar M, Tomzynski TJ, Read E, Johnson E, Rolfe R, Nasir P, Shah H, Haake DA, Manning P, Kaul A. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002; 35: S6-S16 [PMID: 12173102 DOI: 10.1086/341914]
- 25 Schwan A, Sjölin S, Trottestam U, Aronsson B. Relapsing clostridium difficile enterocolitis cured by rectal infusion of homologous faeces. *Lancet* 1983; 2: 845 [PMID: 6137662 DOI: 10.1016/S0140-6736(83)90753-5]
- 26 Borody TJ, Leis SM, Campbell JL, Torres M, Nowak A. Fecal microbiota transplantation (FMT) in multiple sclerosis (MS). *Gastroenterol* 2011; 106: S352
- 27 Navaneethan U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Clostridium difficile infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 330-336 [PMID: 22405170 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.09.005]
- 28 葛洪(东晋). 肘后备急方(第2卷). 天津: 天津科技出版社, 2000: 36
- 29 李时珍(明). 本草纲目(第52卷). 北京: 华夏出版社, 2011: 1921-1923
- 30 Appell RG. Christian Franz Paullini und die homöopathische Dreckapotheke. *AHZ* 2008; 253: 128-131
- 31 ESchulz EH. Die Möglichkeit eines Zusammen-

- hanges zwischen Dreckapotheke und Stahlhär-
tungsmitteln. *Sudhoffs Arch Gesch Med Naturwiss*
1958; 42: 62-64
- 32 Bowden TA, Mansberger AR, Lykins LE. Pseudo-
membranous enterocolitis: mechanism for restor-
ing floral homeostasis. *Am Surg* 1981; 47: 178-183
[PMID: 7224366]
 - 33 李怀东, 陈媛媛, 王海艳, 戚召亮. 基于Pubmed和EM-
BASE 2008-2012年粪菌移植研究文献计量分析. *中华*
医学图书情报杂志 2013; 22: 61-64
 - 34 Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we
standardize the 1,700-year-old fecal microbiota
transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755;
author reply p.1755-p.1756 [PMID: 23160295 DOI:
10.1038/ajg.2012.251]
 - 35 Van Schooneveld TC, Gross A, Kalil AC. Duodenal
infusion of feces for recurrent *Clostridium difficile*.
N Engl J Med 2013; 368: 2143 [PMID: 23718169 DOI:
10.1056/NEJMc1303919]
 - 36 de Vos WM. Fame and future of faecal transplan-
tations--developing next-generation therapies with
synthetic microbiomes. *Microb Biotechnol* 2013; 6:
316-325 [PMID: 23574632 DOI: 10.1111/1751-7915]
 - 37 张发明, 范志宁, 季国忠. 粪菌移植的概念、历史、现
状和未来. *中国内镜杂志* 2012; 18: 930-934
 - 38 张发明. 粪菌移植: 1700年的医学史及其临床应用. *湖*
北民族学院学报(医学版) 2012; 3: 2
 - 39 张发明. 整合肠微生物生态学治疗基础. 上海: 上海科学普
及出版社, 2013: 12-14
 - 40 Mole B. FDA gets to grips with faeces. *Nature* 2013;
498: 147-148 [PMID: 23765468 DOI: 10.1038/498147a]
 - 41 Bennet JD, Brinkman M. Treatment of ulcerative
colitis by implantation of normal colonic flora.
Lancet 1989; 1: 164 [PMID: 2563083 DOI: 10.1016/
S0140-6736(89)91183-5]
 - 42 Aas J, Gessert CE, Bakken JS. Recurrent *Clostridium*
difficile colitis: case series involving 18 patients
treated with donor stool administered via a naso-
gastric tube. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 580-585 [PMID:
12594638 DOI: 10.1086/367657]
 - 43 Hamilton MJ, W.A., Sadowsky MJ, et al, Standard-
ized frozen preparation for transplantation of fecal
microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infec-
tion. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 761-767 [PMID:
22290405 DOI: 10.1038/ajg.2011.482]
 - 44 Schoorel EP, Giesberts MA, Blom W, van Gelderen
HH. D-Lactic acidosis in a boy with short bowel
syndrome. *Arch Dis Child* 1980; 55: 810-812 [PMID:
7436446 DOI: 10.1136/adsc.55.10.810]
 - 45 van der Waaij D, Vossen JM, Altes CK, Hartgrink
C. Reconventionalization following antibiotic de-
contamination in man and animals. *Am J Clin Nutr*
1977; 30: 1887-1895 [PMID: 411365]
 - 46 Borody T, Nowak A, Torres M, Campbell J, Finlay-
son S, Leis S. Bacteriotherapy in Chronic Fatigue
Syndrome (CFS): A Retrospective Review. Annual
scientific meeting report in ACG, 2012
 - 47 Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrish-
nan AN, Curry SR, Gilligan PH, McFarland LV,
Mellow M, Zuckerbraun BS. Guidelines for diagno-
sis, treatment, and prevention of *Clostridium diffi-*
cile infections. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 478-498;
quiz 499 [PMID: 23439232]
 - 48 Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo
VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH. Clinical
practice guidelines for *Clostridium difficile*
infection in adults: 2010 update by the society for
healthcare epidemiology of America (SHEA) and
the infectious diseases society of America (IDSA).
Infect Control Hosp Epidemiol 2010; 31: 431-455 [PMID:
20307191 DOI: 10.1086/651706]
 - 49 Bakken JS. Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clos-*
tridium difficile infection. *Anaerobe* 2009; 15: 285-289
[PMID: 19778623 DOI: 10.1016/j.anaerobe.2009.09.007]
 - 50 Huebner ES, S.C., Treatment of recurrent *Clostridium*
difficile diarrhea. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 2:
203-208
 - 51 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic re-
view of intestinal microbiota transplantation (fecal
bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile*
infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 994-1002 [PMID:
22002980 DOI: 10.1093/cid/cir632]
 - 52 Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplan-
tation: techniques, applications, and issues. *Gas-*
troenterol Clin North Am 2012; 41: 781-803 [PMID:
23101687 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.08.008]
 - 53 Mattila E, Uusitalo-Seppälä R, Wuorela M, Lehtola
L, Nurmi H, Ristikankare M, Moilanen V, Salminen
K, Seppälä M, Mattila PS, Anttila VJ, Arkkila P. Fecal
transplantation, through colonoscopy, is ef-
fective therapy for recurrent *Clostridium difficile*
infection. *Gastroenterology* 2012; 142: 490-496 [PMID:
22155369 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.11.037]
 - 54 van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S,
Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ,
Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf
MG, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for
recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;
368: 407-415 [PMID: 23323867 DOI: 10.1056/NEJ-
Moa1205037]
 - 55 Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, Kanatzar A,
Kelly C, Park T, Stollman N, Rohlke F, Surawicz C.
Long-term follow-up of colonoscopic fecal micro-
biota transplant for recurrent *Clostridium difficile*
infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1079-1087
[PMID: 22450732 DOI: 10.1038/ajg.2012.60]
 - 56 Sartor RB, Mazmanian SK. Intestinal microbes in in-
flammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2012;
Suppl 1: 15-21 [DOI: 10.1038/ajgsup.2012.4]
 - 57 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker
EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic
characterization of microbial community imbal-
ances in human inflammatory bowel diseases. *Proc*
Natl Acad Sci U S A 2007; 104: 13780-13785 [PMID:
17699621 DOI: 10.1073/pnas.0706625104]
 - 58 Borody TJ, Leis S, McGrath K, Spence E, Surance R,
Warren E. Treatment of chronic constipation and
colitis using human probiotic infusions. In: Probiot-
ics, prebiotics and new foods (conference). Rome:
Universita Urbaniana, 2001: 208
 - 59 Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O.
Treatment of ulcerative colitis using fecal bacterio-
therapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-47 [PMID:
12811208 DOI: 10.1097/00004836-200307000-00012]
 - 60 Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman
O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora:
toying with human motions. *J Clin Gastroenterol*
2004; 38: 475-483 [PMID: 15220681 DOI: 10.1097/01.
mcg.0000128988.13808.dc]
 - 61 Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota trans-
plantation: past, present and future. *Curr Opin*
Gastroenterol 2013; 29: 79-84 [PMID: 23041678 DOI:
10.1097/MOG.0b013e32835a4b3e]
 - 62 Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, Crouzet L,

- Del'homme C, Marquet P, Martin JC, Pickering G, Ardid D, Eschaliér A, Dubray C, Flint HJ, Bernalier-Donadille A. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 828-838 [PMID: 22315951 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05007.x]
- 63 Andrews P, Borody TJ, Shortis NP, Thompson S. Bacteriotherapy for chronic constipation-long term follow-up. *Gastroenterology* 1995; 108: A563 [DOI: 10.1016/0016-5085(95) 26563-5]
- 64 Kellermayer R. Prospects and challenges for intestinal microbiome therapy in pediatric gastrointestinal disorders. *Under review* 2013
- 65 Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, Brown EM, Schroeter K, Allen-Vercoe E. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome* 2013; 1: 3 [DOI: 10.1186/2049-2618-1-3]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号;书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

c-Met蛋白在消化系肿瘤中表达的研究进展

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 邢会军

■背景资料

胃癌是消化系统常见的发病率和死亡率均较高的恶性肿瘤, 具有国家和地区差异性。其早期诊断困难, 大部分患者就诊时已发生淋巴结转移, 手术可切除癌变的病灶仍为目前唯一有希望治愈此病的方法。c-Met在恶性肿瘤中的表达通常伴有预后不良和癌灶的远处转移, 研究胃癌中c-Met的表达及临床病理特征的关系, 揭示c-Met在胃癌发病的转移机制中可能的作用具有深远的临床意义。

侯雷, 邢会军, 承德医学院附属医院外三科 河北省承德市 067000

赵明明, 承德医学院附属医院手术部 河北省承德市 067000
孙宝明, 承德市隆化县唐三营中心卫生院 河北省承德市 067000

侯雷, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由侯雷完成; 文献查找及汇总由赵明明与孙宝明完成; 邢会军负责审核。

通讯作者: 邢会军, 副主任医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院外三科。wxl1968.102@163.com

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-18

接受日期: 2013-10-19 在线出版日期: 2013-10-28

Expression of c-Met protein in gastrointestinal tumors: Recent research progress

Lei Hou, Ming-Ming Zhao, Bao-Ming Sun, Hui-Jun Xing

Lei Hou, Hui-Jun Xing, Department of Surgery (Division III), Chengde Medical College Hospital, Chengde 067000, Hebei Province, China

Ming-Ming Zhao, Department of Surgery, Chengde Medical College Hospital, Chengde 067000, Hebei Province, China

Bao-Ming Sun, Tangsanying Health Center, Longhua County, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Hui-Jun Xing, Associate Chief Physician, Department of Surgery (Division III), Chengde Medical College Hospital, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. wxl1968.102@163.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-18

Accepted: 2013-10-19 Published online: 2013-10-28

Abstract

There is a close relationship between HGF/c-Met and many human cancers. The activation and overexpression of HGF/c-Met can cause the growth, invasion and metastasis of breast cancer, ovarian cancer, endometrial cancer, lung cancer, and digestive system tumors. Since c-Met plays an important role in the growth and metastasis of tumors, targeting the HGF/c-Met pathway has become a hotspot for anti-cancer research. Currently, there have been many reports about c-Met expression in digestive tumors. In this paper we try to elaborate the latest progress in research related to c-Met expression in digestive tumors, with an aim to help clinicians gain a systematic understanding of this issue.

■同行评议者

陈钟, 教授, 南通大学附属医院普外科, 南通大学肝胆外科研究所; 张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Esophageal cancer; Colorectal cancer; c-Met; Overexpression

Hou L, Zhao MM, Sun BM, Xing HJ. Expression of c-Met protein in gastrointestinal tumors: Recent research progress. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3230-3235 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3230.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3230>

摘要

肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/c-Met与人类许多恶性肿瘤的生长、侵袭及转移密切相关, 乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、肺癌及消化系肿瘤中均可见HGF/c-Met的激活与过表达。在肿瘤的生长和转移过程中, c-Met担当了重要的角色, 针对HGF/c-Met通路的抗肿瘤研究也成为当今研究的热点。c-Met在消化系肿瘤中的表达有较多的报道, 本文将相关的最新研究做一系统的阐述, 以使临床工作者对目前的研究现状有系统的了解。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 食管癌; 大肠癌; c-Met; 过表达

核心提示: 肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/c-Met信号传导通路是人体内重要的信号传导通路之一, 广泛存在于各种细胞中, 具有多种功能并对组织器官的发育具有重要的生理调节功能。当正常细胞过度表达c-Met或HGF时, 会导致细胞发生恶变。目前有文献报道显示人类多种恶性肿瘤的发生与c-Met蛋白异常表达有关, 这些恶性肿瘤包括甲状腺癌、阴茎鳞癌、乳腺癌、大肠癌、非小细胞肺癌、结肠癌、宫颈鳞状细胞癌等。关于c-Met蛋白在消化系肿瘤中的表达有较多的报道, 本文将相关报道做一系统的阐述, 以使临床工作者对目前的研究现状有系统的了解。

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 邢会军。c-Met蛋白在消化系肿瘤中表达的研究进展。世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3230-3235

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3230.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3230>

0 引言

c-Met是原癌基因编码的蛋白质, 被称为肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)受体且具有酪氨酸激酶活性^[1,2]。自从1984年Nakamura等从部分肝切除大鼠的血清中分离并命名为肝细胞生长因子后^[3-5], 大量的研究已经证实c-Met参与多种肿瘤的病理生理过程^[6-8]。Park等^[9]报道了c-Met的cDNA序列, 确定了c-Met的产物为跨膜蛋白。HGF/c-Met信号传导通路是人体内重要的信号传导通路之一, 广泛存在于各种细胞中, 具有多种功能并对组织器官的发育具有重要的生理调节功能^[10-14]。当正常细胞过度表达c-Met或HGF时, 会导致细胞发生恶变^[15-17]。目前有文献报道显示人类多种恶性肿瘤的发生与c-Met蛋白异常表达有关, 这些恶性肿瘤包括甲状腺癌^[18]、阴茎鳞癌^[19]、乳腺癌^[20]、大肠癌^[21]、非小细胞肺癌^[22,23]、结肠癌^[24]、宫颈鳞状细胞癌^[25,26]等。关于c-Met蛋白在消化系肿瘤中的表达有较多的报道, 本文将相关报道做一系统的阐述, 以使临床工作者对目前的研究现状有系统的了解。

1 c-Met蛋白与胃癌发生的研究现状

胃癌是消化系常见的发病率和死亡率均较高的恶性肿瘤, 具有国家和地区差异性。其早期诊断困难, 大部分患者就诊时已发生淋巴结转移, 手术可切除癌变的病灶仍为目前唯一有希望治愈此病的方法。c-Met在恶性肿瘤中的表达通常伴有预后不良和癌灶的远处转移, 研究胃癌中c-Met的表达及临床病理特征的关系, 揭示c-Met在胃癌发病的转移机制中可能的作用具有深远的临床意义。

为了更清晰地了解c-Met的表达与胃癌的发病之间的关系, 国内外专家进行了相关的研究, 国内马桂芳等^[27]的研究显示c-Met在胃癌、癌周组织的表达(85.74%、83.67%)明显高于正常组织(12.5%), 但在高中低不同分化的研究中, c-Met的表达与胃癌的组织分化程度无明显关系; 胃癌伴有淋巴结转移的患者中c-Met的阳性表达明显高于无淋巴结转移者, 表明c-Met表达与胃癌患者是否伴有淋巴结转移密切相关; 胃癌中肿瘤体积>5 cm与<5 cm的c-Met表达的研究显示, 两者的阳性表达率无显著性差异, 说明c-Met表达与肿瘤大小无关。国外Chi等^[28]对

c-Met及整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 在胃贲门腺癌的表达进行研究, 采用RT-PCR分析两者mRNA的表达、Western blot分析两者蛋白的表达并使用免疫组织化学进行表达模式的鉴定, 结果表明c-Met和整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 的表达与胃贲门腺癌的分化程度、分期及远处转移显著相关。Ma等^[29]评估了结肠癌转移相关基因1(metastasis associated in colon cancer-1, *MACC-1*)和c-Met在胃癌组织中的表达, 发现*MACC-1*和c-Met在非癌组织中表达较弱或缺失, 在胃癌组织中呈中重度表达。最近的研究显示, 可溶性c-Met具有作为胃癌新型生物标记物的潜能, 人类血浆中高浓度的可溶性c-Met成为强有力的支持^[30]。

2 c-Met蛋白在食管鳞癌发生发展中的调控

食管鳞癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 我国是食管癌的高发国家, 鉴于食管癌早期诊断困难, 80%的患者就诊时已进入中晚期, 因此深入研究食管癌发生发展过程中相关的危险因素及肿瘤标志物, 做到早期发现、早期诊断、早期治疗, 对于提高患者的生存率、改善患者生活质量具有重要的临床价值和意义。c-Met蛋白与多种肿瘤的侵袭和转移密切相关, 因此探讨HGF的受体c-Met在食管鳞癌发生发展中的作用, 可为临床评估预后及开发肿瘤治疗靶点提供帮助。

食管鳞癌的发生与基因的改变具有相关性, 常见的包括P53突变、P120ctn失活及c-Met、表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, *EGFR*)等基因的过表达^[31,32]。Grugan等^[33]研究发现P53突变激活c-Met酪氨酸激酶受体从而增强肿瘤细胞的侵袭。在P53表达增强的食管上皮细胞中发现增加的c-Met酪氨酸激酶受体。Herrera等^[34]利用免疫组织化学法和RT-PCR方法测定食管腺癌、Barrett食管、正常食管组织中c-Met蛋白和mRNA的表达显示, c-Met在食管腺癌及发育不良的Barrett食管中呈过表达。国内邹志田等^[35]探讨了c-Met基因和*COX-2*基因在食管鳞癌组织中的表达, 结果示c-Met基因和*COX-2*基因在食管鳞癌中呈高表达, 而在癌旁正常食管组织中低表达。Ren等^[36]利用ELISA方法测定食管鳞癌患者血清中HGF的含量, 结果显示患者血清中HGF较正常显著增高。因此我们有理由认为c-Met在食管癌的发生、发展、侵袭及转移中发挥了重要作用, 如果能找到有效抑制c-Met表达的途径, 则有望控制肿瘤的生长及转移, 从而

■研究前沿

虽然目前对于c-Met蛋白的研究取得了较大的成果, 但仍存在的一些不足, 首先, 在肿瘤发生过程中c-Met蛋白的失调, 是*met*基因的突变、重排或扩增引起的, 还是其他分子失调导致的c-Met蛋白表达的异常需进一步的研究; 其次, 研究c-Met蛋白的空间结构可能为我们研究其致病机制提供线索; 最后, c-Met蛋白与其他致癌基因在肿瘤发生过程中的相互作用尚有待进一步的探讨。

■相关报道

Nabeshima等发现当人HGF和c-Met同时在NHI3T3细胞中表达时才有致癌作用。Tomita等研究在上皮细胞中HGF能显著增加他本身及其受体c-Met的表达。恶性肿瘤的侵袭与转移是一个极其复杂的过程,需要经过肿瘤细胞间黏附力的降低、肿瘤细胞与基底膜的附着、肿瘤细胞的迁移等最终使得肿瘤细胞游走并停留在其他的脏器。

阻止肿瘤的恶性生物学行为,延长患者寿命。

3 c-Met蛋白与大肠癌发生发展的相关性

大肠癌是消化系常见的恶性肿瘤,在其发病过程中存在许多原癌基因的激活和抑癌基因的失活。c-Met蛋白参与细胞信号传导、细胞骨架重排的调控,是控制细胞增殖、分化和运动的重要因素。众多研究提示c-Met蛋白在大肠癌发病早期起了重要的作用,因此深入研究c-Met系统,将有助于大肠癌的诊断、治疗和预后判断。

c-Met在大肠癌的发生发展中起着重要的作用,被认为极具吸引力的受体分子治疗靶点^[37]。Gao等^[38]调查了c-Met的高表达与大肠癌发生的关系,免疫组织化学检测了大肠癌患者及良性肿瘤患者的c-Met,发现c-Met的高表达与肿瘤的淋巴结转移及分期有关。国内荣玮等^[39]探讨了c-Met在大肠腺癌组织中的表达,结果显示c-Met的表达与大肠癌组织的分化程度、浸润深度、淋巴结转移及Duke分期有关,与国外研究结果一致。徐伟等^[40]研究了重组免疫毒素(immunotoxin, IT)抗c-Met/PE38KDEL对大肠癌细胞增殖的抑制作用,结果显示重组IT抗c-Met/PE38KDEL对大肠癌细胞株有显著的增殖抑制及诱导凋亡的作用。郭运生^[41]通过观察大肠癌组织中肝细胞生长因子及其受体c-Met和微血管密度(microvessel density, MVD),发现HGF、c-Met蛋白阳性者MVD均显著高于HGF、c-Met蛋白阴性者。江燕飞等^[42]采用免疫组织化学检测c-Met和CXCR4在癌旁正常组织、大肠腺癌中的表达显示c-Met和趋化因子受体4(CXC chemokine receptor-4, CXCR4)的表达存在相关性,与大肠癌的发生、发展和肝转移有关。Zeng等^[43]研究表明大肠癌组织较正常大肠c-Met明显增高,且与肿瘤进展相关,提示c-Met激活机制在大肠癌的发生、转移中起着重要作用。Umeki等^[44]采用RT-PCR及Southern blot方法对43例大肠癌标本进行c-Met基因扩增与过表达的研究,认为c-Met基因过表达与大肠癌的发展相关。

结直肠癌作为一种严重危害人类健康的消化系肿瘤,发病率逐年上升^[45]。有研究显示结直肠癌患者中HGF高水平表达且与分期呈正相关,合并转移的患者较无转移的患者HGF水平更高^[45-47]。HGF作为一种多功能生物因子具有诱导血管生成的作用,异常的HGF/c-Met信号转导通路与肿瘤的发生密切相关^[48-50]。程变巧等^[51]研究显示脆性组氨酸三联体基因(fragile histidine

triad, FHIT)及c-Met基因的表达与结直肠癌发生发展有关,两者联合检测可作为结直肠癌预后的判断指标。Chen等^[52]研究显示MJ-56通过影响c-Met的衰减潜在的影响结直肠癌转移的治疗。

HGF与c-Met蛋白结合后使细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal regulated protein kinase, ERK)磷酸化而被激活,从而增强细胞的运动能力^[53]。Otsuka等^[54]通过转基因大鼠研究证实了HGF及其受体c-Met在肿瘤发生中的作用。徐志彬等^[55]在构建的家兔口腔颊黏膜鳞状上皮癌前病变模型中,通过病理检查及免疫组织化学检查c-Met蛋白的表达,发现c-Met蛋白的表达与HGF呈正相关,且在肿瘤的早期阶段即对上皮细胞的恶变起到了促进作用。

Nabeshima等^[56]发现当人HGF和c-Met同时在NHI3T3细胞中表达时才有致癌作用。Tomita等^[57]研究在上皮细胞中HGF能显著增加他本身及其受体c-Met的表达。恶性肿瘤的侵袭与转移是一个极其复杂的过程,需要经过肿瘤细胞间黏附力的降低、肿瘤细胞与基底膜的附着、肿瘤细胞的迁移等最终使得肿瘤细胞游走并停留在其他的脏器^[58-61]。在这个过程中c-Met和HGF信号传导通路对肿瘤细胞的许多生物学行为具有影响,特别是可以促进肿瘤细胞的局部浸润和远处转移^[62]。

虽然目前对于c-Met蛋白的研究取得了较大的成果,但仍存在一些不足,首先,在肿瘤发生过程中c-Met蛋白的失调,是met基因的突变、重排或扩增引起的,还是其他分子失调导致的c-Met蛋白表达的异常需进一步的研究;其次,研究c-Met蛋白的空间结构可能为我们研究其致病机制提供线索;最后,c-Met蛋白与其他致癌基因在肿瘤发生过程中的相互作用尚有待进一步的探讨。

4 结论

以上为c-Met在消化系肿瘤中的表达现状,目前的研究表明,c-Met蛋白已经在多种肿瘤细胞中呈现过表达,可能成为判断肿瘤局部侵袭和远处转移及辅助判断预后的指标之一。在胃癌、食管癌、大肠癌中c-Met的高表达将为临床工作中分子靶向治疗提供新的治疗位点,已将成为预测肿瘤治疗效果的生物标志物之一。

5 参考文献

- 1 Maulik G, Shrikhande A, Kijima T, Ma PC, Mor-

- 1 rison PT, Salgia R. Role of the hepatocyte growth factor receptor, c-Met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 41-59 [PMID: 11750879 DOI: 10.1016/S1359-6101(01)00029-6]
- 2 Naldini L, Weidner KM, Vigna E, Gaudino G, Bardelli A, Ponzetto C, Narsimhan RP, Hartmann G, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Scatter factor and hepatocyte growth factor are indistinguishable ligands for the MET receptor. *EMBO J* 1991; 10: 2867-2878 [PMID: 1655405]
- 3 Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 122: 1450-1459 [PMID: 6477569]
- 4 Stoker M, Perryman M. An epithelial scatter factor released by embryo fibroblasts. *J Cell Sci* 1985; 77: 209-223 [PMID: 3841349]
- 5 Zarnegar R, Petersen B, DeFrances MC, Michalopoulos G. Localization of hepatocyte growth factor (HGF) gene on human chromosome 7. *Genomics* 1992; 12: 147-150 [PMID: 1531136 DOI: 10.1016/0888-7543(92)90417-Q]
- 6 Qiu S, Anderson CT, Levitt P, Shepherd GM. Circuit-specific intracortical hyperconnectivity in mice with deletion of the autism-associated Met receptor tyrosine kinase. *J Neurosci* 2011; 31: 5855-5864 [PMID: 21490227 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6569-10.2011]
- 7 Salehi Z, Rajaei F. Expression of hepatocyte growth factor in the serum and cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2010; 17: 1553-1556 [PMID: 20829049 DOI: 10.1016/j.jocn.2010.04.034]
- 8 Todaro M, Iovino F, Eterno V, Cammareri P, Gambarà G, Espina V, Gulotta G, Dieli F, Giordano S, De Maria R, Stassi G. Tumorigenic and metastatic activity of human thyroid cancer stem cells. *Cancer Res* 2010; 70: 8874-8885 [PMID: 20959469 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 9 Park M, Dean M, Cooper CS, Schmidt M, O'Brien SJ, Blair DG, Vande Woude GF. Mechanism of met oncogene activation. *Cell* 1986; 45: 895-904 [PMID: 2423252]
- 10 Whiteside TL. The role of death receptor ligands in shaping tumor microenvironment. *Immunol Invest* 2007; 36: 25-46 [PMID: 17190648 DOI: 10.1080/08820130600991893]
- 11 Ephstein Y, Singleton PA, Chen W, Wang L, Salgia R, Kanteti P, Dudek SM, Garcia JG, Jacobson JR. Critical role of S1PR1 and integrin $\beta 4$ in HGF/c-Met-mediated increases in vascular integrity. *J Biol Chem* 2013; 288: 2191-2200 [PMID: 23212923 DOI: 10.1074/jbc.M112.404780]
- 12 Lorenzato A, Olivero M, Patanè S, Rosso E, Oliaro A, Comoglio PM, Di Renzo MF. Novel somatic mutations of the MET oncogene in human carcinoma metastases activating cell motility and invasion. *Cancer Res* 2002; 62: 7025-7030 [PMID: 12460923]
- 13 Wajih N, Sane DC. Angiostatin selectively inhibits signaling by hepatocyte growth factor in endothelial and smooth muscle cells. *Blood* 2003; 101: 1857-1863 [PMID: 12406896 DOI: 10.1182/blood-2002-02-0582]
- 14 Woodard CL, Goodwin CR, Wan J, Xia S, Newman R, Hu J, Zhang J, Hayward SD, Qian J, Laterra J, Zhu H. Profiling the Dynamics of a Human Phosphorylome Reveals New Components in HGF/c-Met Signaling. *PLoS One* 2013; 8: e72671 [PMID: 24023761 DOI: 10.1371/journal.pone.0072671]
- 15 Xu X, Chen H, Lin Y, Hu Z, Mao Y, Wu J, Xu X, Zhu Y, Li S, Zheng X, Xie L. MicroRNA-409-3p inhibits migration and invasion of bladder cancer cells via targeting c-Met. *Mol Cells* 2013; 36: 62-68 [PMID: 23820886 DOI: 10.1007/s10059-013-0044-7]
- 16 Danilkovitch-Miagkova A, Zbar B. Dysregulation of Met receptor tyrosine kinase activity in invasive tumors. *J Clin Invest* 2002; 109: 863-867 [PMID: 11927612]
- 17 Zhao Y, Zhao J, Mialki RK, Wei J, Spannhake EW, Salgia R, Natarajan V. Lipopolysaccharide-induced phosphorylation of c-Met tyrosine residue 1003 regulates c-Met intracellular trafficking and lung epithelial barrier function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013; 305: L56-L63 [PMID: 23624790 DOI: 10.1152/ajplung.00417.2012]
- 18 da Silveira Mitteldorf CA, de Sousa-Canavez JM, Leite KR, Masumoto C, Camara-Lopes LH. FN1, GALE, MET, and QPCT overexpression in papillary thyroid carcinoma: molecular analysis using frozen tissue and routine fine-needle aspiration biopsy samples. *Diagn Cytopathol* 2011; 39: 556-561 [PMID: 20607686 DOI: 10.1002/dc.21423]
- 19 Gunia S, Erbersdobler A, Hakenberg OW, Koch S, May M. C-MET is expressed in the majority of penile squamous cell carcinomas and correlates with polysomy-7 but is not associated with MET oncogene amplification, pertinent histopathologic parameters, or with cancer-specific survival. *Pathol Res Pract* 2013; 209: 215-220 [PMID: 23490239 DOI: 10.1016/j.prp.2013.02.002]
- 20 Hung CM, Kuo DH, Chou CH, Su YC, Ho CT, Way TD. Osteole suppresses hepatocyte growth factor (HGF)-induced epithelial-mesenchymal transition via repression of the c-Met/Akt/mTOR pathway in human breast cancer cells. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 9683-9690 [PMID: 21806057 DOI: 10.1021/jf2021489]
- 21 Garouniatis A, Zizi-Sermpetzoglou A, Rizos S, Kostakis A, Nikiteas N, Papavassiliou AG. Vascular endothelial growth factor receptors 1,3 and caveolin-1 are implicated in colorectal cancer aggressiveness and prognosis--correlations with epidermal growth factor receptor, CD44v6, focal adhesion kinase, and c-Met. *Tumour Biol* 2013; 34: 2109-2117 [PMID: 23580180 DOI: 10.1007/s13277-013-0776-1]
- 22 Fu L, Guo W, Liu B, Sun L, Bi Z, Zhu L, Wang X, Liu B, Xie Q, Li K. Shedding of c-Met ectodomain correlates with c-Met expression in non-small cell lung cancer. *Biomarkers* 2013; 18: 126-135 [PMID: 23410046 DOI: 10.3109/1354750X.2012.751455]
- 23 Landi L, Minuti G, D'Incecco A, Cappuzzo F. Targeting c-MET in the battle against advanced nonsmall-cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* 2013; 25: 130-136 [PMID: 23385860 DOI: 10.1097/CCO.0b013e32835daf37]
- 24 Siemens H, Neumann J, Jackstadt R, Mansmann U, Horst D, Kirchner T, Hermeking H. Detection of miR-34a promoter methylation in combination with elevated expression of c-Met and β -catenin predicts distant metastasis of colon cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 710-720 [PMID: 23243217 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1703]
- 25 Horn LC, Hommel N, Roschlau U, Bilek K,

同行评价

本文阅读了大量文献, 系统阐述c-Met蛋白在消化系统肿瘤中的表达, 工作值得肯定, 但新颖性一般。

- Hentschel B, Eienkel J. Peritumoral stromal remodeling, pattern of invasion and expression of c-met/HGF in advanced squamous cell carcinoma of the cervix uteri, FIGO stages III and IV. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 163: 76-80 [PMID: 22480414 DOI: 10.1016/j.ejogrb.2012.03.019]
- 26 Leo C, Horn LC, Eienkel J, Hentschel B, Höckel M. Tumor hypoxia and expression of c-met in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2007; 104: 181-185 [PMID: 16996116 DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.07.040]
- 27 马桂芳, 蔡红星, 丁凤云, 兰建云. 胃癌组织中OPN、c-Met蛋白的异常表达及其意义. *重庆医药* 2012; 41: 3823-3827
- 28 Chi F, Fu D, Zhang X, Lv Z, Wang Z. Expression of the c-Met proto-oncogene and Integrin $\alpha 5 \beta 1$ in human gastric cardia adenocarcinoma. *Biosci Biotechnol Biochem* 2012; 76: 1471-1476 [PMID: 22976495 DOI: 10.1271/bbb.120132]
- 29 Ma J, Ma J, Meng Q, Zhao ZS, Xu WJ. Prognostic Value and Clinical Pathology of MACC-1 and c-MET Expression in Gastric Carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2013; 19: 821-832 [PMID: 23812675 DOI: 10.1007/s12253-013-9650-0]
- 30 Yang JJ, Yang JH, Kim J, Ma SH, Cho LY, Ko KP, Shin A, Choi BY, Kim HJ, Han DS, Eun CS, Song KS, Kim YS, Chang SH, Shin HR, Kang D, Yoo KY, Park SK. Soluble c-Met protein as a susceptible biomarker for gastric cancer risk: A nested case-control study within the Korean Multicenter Cancer Cohort. *Int J Cancer* 2013; 132: 2148-2156 [PMID: 23001699 DOI: 10.1002/ijc.27861]
- 31 Ku GY, Ilson DH. Emerging tyrosine kinase inhibitors for esophageal cancer. *Expert Opin Emerg Drugs* 2013; 18: 219-230 [PMID: 23725567 DOI: 10.1517/14728214.2013.805203]
- 32 Hong L, Han Y, Brain L. Epidermal growth factor receptor: an important target in esophageal cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 1179-1185 [PMID: 23855932 DOI: 10.1517/14728222.2013.820709]
- 33 Grugan KD, Vega ME, Wong GS, Diehl JA, Bass AJ, Wong KK, Nakagawa H, Rustgi AK. A common p53 mutation (R175H) activates c-Met receptor tyrosine kinase to enhance tumor cell invasion. *Cancer Biol Ther* 2013 Jun 18. [Epub ahead of print][PMID: 23792586]
- 34 Herrera LJ, El-Hefnawy T, Queiroz de Oliveira PE, Raja S, Finkelstein S, Gooding W, Luketich JD, Godfrey TE, Hughes SJ. The HGF receptor c-Met is overexpressed in esophageal adenocarcinoma. *Neoplasia* 2005; 7: 75-84 [PMID: 15720819 DOI: 10.1593/neo.04367]
- 35 邹志田, 崔祥星, 胡宗权, 朱晓峰. C-met基因与COX-2基因在食管鳞癌中的表达及其临床意义. *黑龙江医药科学* 2012; 35: 74-76
- 36 Ren Y, Cao B, Law S, Xie Y, Lee PY, Cheung L, Chen Y, Huang X, Chan HM, Zhao P, Luk J, Vande Woude G, Wong J. Hepatocyte growth factor promotes cancer cell migration and angiogenic factors expression: a prognostic marker of human esophageal squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6190-6197 [PMID: 16144920 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2553]
- 37 Shojaei F, Simmons BH, Lee JH, Lappin PB, Christensen JG. HGF/c-Met pathway is one of the mediators of sunitinib-induced tumor cell type-dependent metastasis. *Cancer Lett* 2012; 320: 48-55 [PMID: 22269210 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.01.026]
- 38 Gao W, Bing X, Li M, Yang Z, Li Y, Chen H. Study of critical role of c-Met and its inhibitor SU11274 in colorectal carcinoma. *Med Oncol* 2013; 30: 546 [PMID: 23536000 DOI: 10.1007/s12032-013-0546-3]
- 39 荣玮, 王俊幸, 于秀文, 张晓杰, 庄敏, 刘晓雨, 田杰. CD151和c-met在大肠癌中的表达及临床意义. *中国老年学杂志* 2013; 33: 27-30
- 40 徐伟, 朱晓娟, 蔡楠, 张秀华, 范志宁, 刘政, 季国忠. 重组免疫毒素抗c-Met/PE38KDEL对人大肠癌细胞株增殖及凋亡的影响. *医学研究生学报* 2011; 24: 683-686
- 41 郭运生. 大肠癌组织中HGF、c-Met、MVD的表达变化及意义. *山东医药* 2010; 50: 54-55
- 42 江燕飞, 吕国庆, 肖平. c-met基因和趋化因子受体4的表达与大肠癌肝转移的关系. *中华临床医师杂志* 2010; 4: 1544-1548
- 43 Zeng Z, Weiser MR, D'Alessio M, Grace A, Shia J, Paty PB. Immunoblot analysis of c-Met expression in human colorectal cancer: overexpression is associated with advanced stage cancer. *Clin Exp Metastasis* 2004; 21: 409-417 [PMID: 15672865 DOI: 10.1007/s10585-005-1617-4]
- 44 Umeki K, Shiota G, Kawasaki H. Clinical significance of c-met oncogene alterations in human colorectal cancer. *Oncology* 1999; 56: 314-321 [PMID: 10343196 DOI: 10.1159/000011985]
- 45 Bhangu A, Brown G, Nicholls RJ, Wong J, Darzi A, Tekkis P. Survival Outcome of Local Excision versus Radical Resection of Colon or Rectal Carcinoma: A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Population-Based Study. *Ann Surg* 2013; 258: 563-571 [PMID: 23979270 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182a4e85a]
- 46 Isella C, Mellano A, Galimi F, Petti C, Capussotti L, De Simone M, Bertotti A, Medico E, Muratore A. MACC1 mRNA levels predict cancer recurrence after resection of colorectal cancer liver metastases. *Ann Surg* 2013; 257: 1089-1095 [PMID: 23665971 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31828f96bc]
- 47 Takeuchi H, Bilchik A, Saha S, Turner R, Wiese D, Tanaka M, Kuo C, Wang HJ, Hoon DS. c-MET expression level in primary colon cancer: a predictor of tumor invasion and lymph node metastases. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1480-1488 [PMID: 12684423]
- 48 Voutsina A, Tzardi M, Kalikaki A, Zafeiriou Z, Papadimitrakaki E, Papadakis M, Mavroudis D, Georgoulas V. Combined analysis of KRAS and PIK3CA mutations, MET and PTEN expression in primary tumors and corresponding metastases in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2013; 26: 302-313 [PMID: 22936063 DOI: 10.1038/modpathol.2012.150]
- 49 Zeng Q, Chen S, You Z, Yang F, Carey TE, Saims D, Wang CY. Hepatocyte growth factor inhibits anoikis in head and neck squamous cell carcinoma cells by activation of ERK and Akt signaling independent of NFkappa B. *J Biol Chem* 2002; 277: 25203-25208 [PMID: 11994287 DOI: 10.1074/jbc.M201598200]
- 50 Gao CF, Vande Woude GF. HGF/SF-Met signaling in tumor progression. *Cell Res* 2005; 15: 49-51 [PMID: 15686627 DOI: 10.1038/sj.cr.7290264]
- 51 程变巧, 刘国永, 郭长青. 结直肠癌中FHIT、c-met基因表达与增殖的关系及其预后研究. *河南肿瘤学杂志* 2004; 17: 232-234
- 52 Chen HJ, Jiang YL, Lin CM, Tsai SC, Peng SF, Fushiya S, Hour MJ, Yang JS. Dual inhibition of EGFR and c-Met kinase activation by MJ-56 reduces

- metastasis of HT29 human colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 2013; 43: 141-150 [PMID: 23677180 DOI: 10.3892/ijo.2013.1941]
- 53 姜虹. HGF-C-met信号转导与肿瘤侵袭和转移的关系. 国外医学·生理、病理科学与临床分册 2003; 23: 235-237
- 54 Otsuka T, Takayama H, Sharp R, Celli G, LaRochelle WJ, Bottaro DP, Ellmore N, Vieira W, Owens JW, Anver M, Merlino G. c-Met autocrine activation induces development of malignant melanoma and acquisition of the metastatic phenotype. *Cancer Res* 1998; 58: 5157-5167 [PMID: 9823327]
- 55 徐志彬, 赵鹏, 高扬. HCG、c-Met蛋白在家兔颊黏膜癌变过程中的表达. 重庆医药 2013; 42: 1601-1604
- 56 Nabeshima K, Shimao Y, Inoue T, Itoh H, Kataoka H, Koono M. Hepatocyte growth factor/scatter factor induces not only scattering but also cohort migration of human colorectal-adenocarcinoma cells. *Int J Cancer* 1998; 78: 750-759 [PMID: 9833769 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19981209)78: 6<750: : AID-IJC13>3.0.CO; 2-#]
- 57 Tomita N, Morishita R, Taniyama Y, Koike H, Aoki M, Shimizu H, Matsumoto K, Nakamura T, Kaneda Y, Ogihara T. Angiogenic property of hepatocyte growth factor is dependent on upregulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets-1. *Circulation* 2003; 107: 1411-1417 [PMID: 12642363 DOI: 10.1161/01.CIR.0000055331.41937.AA]
- 58 王杰军, 应明真. 恶性肿瘤的转移机制与治疗策略. 中国肿瘤生物治疗杂志 2008; 15: 305-310
- 59 朱广玉, 常家聪. 恶性肿瘤淋巴结转移分子标记物及转移机制研究进展. 山东医药 2010; 50: 107-108
- 60 Lopez-Camarillo C, Marchat LA, Arechaga-Ocampo E, Perez-Plasencia C, Del Moral-Hernandez O, Castaneda-Ortiz EJ, Rodriguez-Cuevas S. MetastamiRs: Non-Coding MicroRNAs Driving Cancer Invasion and Metastasis. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 1347-1379 [PMID: 22408395 DOI: 10.3390/ijms13021347]
- 61 Yamaguchi H. Pathological roles of invadopodia in cancer invasion and metastasis. *Eur J Cell Biol* 2012; 91: 902-907 [PMID: 22658792 DOI: 10.1016/j.ejcb.2012.04.005]
- 62 Liu X, Newton RC, Scherle PA. Developing c-MET pathway inhibitors for cancer therapy: progress and challenges. *Trends Mol Med* 2010; 16: 37-45 [PMID: 20031486 DOI: 10.1016/j.molmed.2009.11.005]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

脂多糖对人肝星状细胞株LX-2活化和凋亡相关蛋白表达的影响

杨亚楠, 万维琴, 朱丹丹, 孙伟, 冯金荣, 段义农

■背景资料

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性细菌细胞壁中的主要致病成分, 与肝纤维化的发生发展关系密切。在肝纤维化进程中, LPS能够刺激肝星状细胞活化。然而, LPS也能诱导肝细胞、Kupffer细胞等细胞凋亡。

杨亚楠, 朱丹丹, 孙伟, 冯金荣, 段义农, 南通大学医学院病原生物学系 江苏省南通市 226001

杨亚楠, 宝鸡职业技术学院医学分院检验教研室 陕西省宝鸡市 721013

万维琴, 中国人民解放军61398部队门诊部 上海市 200137

杨亚楠, 助教, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81171589

江苏高校优势学科建设工程基金资助项目(PAPD)

作者贡献分布: 本课题由杨亚楠、朱丹丹及段义农设计; 研究过程由杨亚楠与万维琴共同完成; 技术指导由孙伟与冯金荣完成; 数据分析和论文撰写由杨亚楠、万维琴、朱丹丹及段义农共同完成。

通讯作者: 段义农, 教授, 226001, 江苏省南通市启秀路19号, 南通大学医学院病原生物学系. yinongduan@126.com
电话: 0513-85051738

收稿日期: 2013-06-28 修回日期: 2013-09-04

接受日期: 2013-09-12 在线出版日期: 2013-10-28

Effect of lipopolysaccharide on expression of proteins associated with cell activation and apoptosis in human hepatic stellate cell line LX-2

Ya-Nan Yang, Wei-Qin Wan, Dan-Dan Zhu, Wei Sun, Jin-Rong Feng, Yi-Nong Duan

Ya-Nan Yang, Dan-Dan Zhu, Wei Sun, Jin-Rong Feng, Yi-Nong Duan, Department of Pathogen Biology, Medical College of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Ya-Nan Yang, Baoji Vocational Technology College, Baoji 721013, Shanxi Province, China

Wei-Qin Wan, Clinic of the 61398 Army of PLA, Shanghai 200137, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81171589; and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

Correspondence to: Yi-Nong Duan, Professor, Department of Pathogen Biology, Medical College of Nantong University, 19 Qixiu Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yinongduan@126.com

Received: 2013-06-28 Revised: 2013-09-04

Accepted: 2013-09-12 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To observe the effect of lipopolysaccharide (LPS) on the expression of proteins associated with cell activation and apoptosis in human hepatic stellate cell line LX-2.

METHODS: The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Desmin and active Caspase 3 proteins was detected by Western blot in LX-2 cells treated with LPS.

RESULTS: PCNA and Desmin expression in LX-2 cells could be regulated by LPS stimulation. No expression of active Caspase 3 was detected in LX-2 cells stimulated with low-concentration LPS or with LPS for a short period; however, the expression of active Caspase 3 could be up-regulated by stimulation with high-concentration LPS or with LPS for a long period.

CONCLUSION: The proliferation, activation and apoptosis of LX-2 cells can be induced by LPS under appropriate conditions.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic stellate cell; Lipopolysaccharide; Activation; Apoptosis

Yang YN, Wan WQ, Zhu DD, Sun W, Feng JR, Duan YN. Effect of lipopolysaccharide on expression of proteins associated with cell activation and apoptosis in human hepatic stellate cell line LX-2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3236-3240 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3236.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3236>

摘要

目的: 探讨脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)对人肝星状细胞株LX-2增殖、活化和凋亡相关蛋白表达的影响。

方法: 应用Western blot技术检测脂多糖刺激的LX-2细胞中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、结蛋白(Desmin)和活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase3)表达。

结果: 人肝星状细胞株LX-2经脂多糖刺激后, PCNA和Desmin表达呈现先上升后下降的趋

■同行评议者

虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

势;活化的Caspase3在脂多糖低浓度或短时间刺激LX-2时无表达,在脂多糖高浓度或长时间刺激后呈现显著上升。

结论:脂多糖在适当的条件下能够诱导LX-2细胞增殖、活化以及凋亡。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:肝星状细胞;脂多糖;活化;凋亡

核心提示:本实验从体外细胞实验证实了促炎症因子脂多糖在不同的条件和作用时间下能对肝星状细胞增殖、活化产生了不同的影响,低浓度和短时间能够诱导肝星状细胞增殖和活化,高浓度和长时间则能够抑制肝星状细胞活化和增殖,甚至诱导细胞凋亡,该结果为进一步观察LPS在体内肝纤维化进展过程中的具体作用提供一定的理论依据。

杨亚楠, 万维琴, 朱丹丹, 孙伟, 冯金荣, 段义农. 脂多糖对人肝星状细胞株LX-2活化和凋亡相关蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3236-3240 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3236.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3236>

0 引言

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性菌细胞壁中的主要致病成分,可通过激活单核细胞、巨噬细胞及内皮细胞等,诱导机体产生炎症反应^[1,2]。已有研究表明, LPS与肝纤维化的发生发展关系密切^[3]。肝纤维化进程中, LPS能够间接或直接的刺激位于Disse腔内的肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs),诱导其活化并提高I型和III型胶原的表达^[4]。LPS对肝星状细胞直接或间接的刺激作用,主要是依赖肝星状细胞或Kupffer细胞等细胞中内毒素受体。研究表明,在LPS诱导的肝星状细胞活化过程中,可观察到肝星状细胞或Kupffer细胞中Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)受体及CD14受体等表达上调^[5-7]。此外,研究表明, LPS在肝细胞、Kupffer细胞等均能诱导细胞凋亡^[8,9]。本研究中采用不同浓度、剂量LPS诱导人肝星状细胞株LX-2,观察LPS对LX-2细胞增殖、凋亡和活化相关蛋白,如增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、结蛋白(Desmin)以及活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(active Caspase3)表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 LX-2细胞株购于南方细胞技术有限公

司;DMEM(高糖型)培养液、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶购自美国GIBCO公司;LPS购于美国SIGMA公司;抗PCNA抗体和抗active Caspase3抗体来自于美国Abcam公司;抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自杭州贤至公司;辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记二抗及抗Desmin抗体来自于美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理 人肝星状细胞株LX-2培养于DMEM培养基(含100 U/mL青霉素、100 μg/mL链霉素、10 mmol/L谷氨酰胺及10%胎牛血清)中,于37℃、5%CO₂细胞培养箱培养。用不同浓度LPS(0、0.001、0.01、0.1、1、10 μg/mL)处理LX-2细胞6 h后,收集样本,确定最佳刺激浓度;选择浓度0.01 μg/mL LPS在不同时间点(0、1、3、6、9、12、18、24 h)处理LX-2细胞,收集样本。

1.2.2 Western blot 收集的细胞经SDS蛋白裂解液裂解获得蛋白后,利用Bradford法检测蛋白浓度,并与上样缓冲液混匀,100℃煮10 min,离心后上清于10%或12%的SDS-PAGE凝胶电泳,并转印至PVDF膜。经5%脱脂奶粉封闭过夜后,依次孵育相应一抗(25℃, 4 h),二抗(25℃, 1 h),随后ECL显影。以GAPDH作为内参标准。Bio-Rad Quantity One软件作为灰度扫描软件。

统计学处理 数据分析用SPSS15.0软件统计。所有实验重复3次,数据以mean±SD表示,组间比较采用One-way Anova法(LSD)检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS对肝星状细胞增殖相关蛋白表达影响 用不同浓度的LPS(0、0.001、0.01、0.1、1、10 μg/mL)处理LX-2细胞6 h后,用Western blot检测增殖指标PCNA的表达情况,发现LPS为0.001 μg/mL时,PCNA表达增加并最明显,随着LPS浓度增加,PCNA的表达逐渐减少,当LPS为10 μg/mL时,PCNA的表达下降,与未刺激组相比,差异有统计学意义(图1A, B)。用0.01 μg/mL LPS以不同时间点(0、1、3、6、9、12、18、24 h)处理LX-2细胞,用Western blot检测PCNA表达情况,结果显示LPS促进肝星状细胞增殖从3 h开始,并持续增加到12 h时后逐渐降低(图1C, D)。

2.2 LPS对肝星状细胞活化相关蛋白表达影响 为了检测肝星状细胞的活化状态,我们用不同浓

■研发前沿

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是一种贮存脂滴的肝非实质细胞,是肝纤维化过程中主要效应细胞。在慢性肝损伤时, HSCs通过复杂的机制持续激活、增殖,转化为肌成纤维细胞,并参与调节细胞外基质(extracellular matrix)的代谢过程。

■相关报道

贾晋斌等发现,内毒素在刺激Kupffer细胞从而影响肝星状细胞活化的过程中,并非为单一的活化作用,高浓度的内毒素能够损伤细胞,使得高浓度内毒素处理的Kupffer细胞培养上清不能促进肝星状细胞的活化。

■ 创新盘点

本研究观察了LPS对肝星状细胞中蛋白表达的影响,尤其是对凋亡相关蛋白的影响,该结果为进一步观察LPS在体内肝纤维化进展过程中的具体作用提供一定的理论依据。

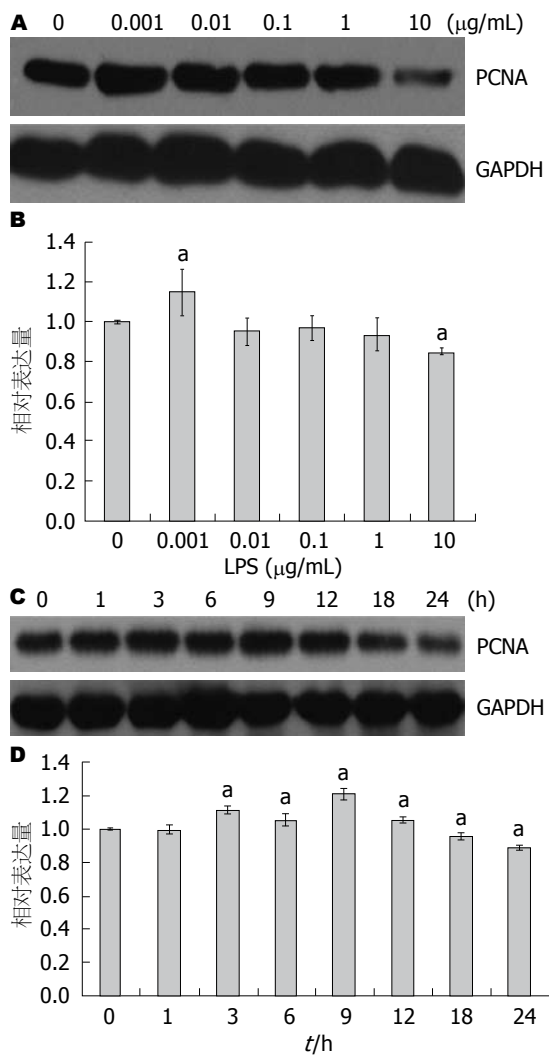


图1 LPS刺激LX-2细胞后PCNA表达的Western blot结果。A, B: LPS不同刺激剂量的影响; C, D: LPS不同刺激时间的影响; ^a*P*<0.05 vs 未刺激组。LPS: 脂多糖; PCNA: 增殖细胞核抗原; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

度LPS(0、0.001、0.01、0.1、1.0、10 µg/mL)分别处理LX-2细胞6 h,应用Western blot检测HSCs活化指标Desmin表达情况。结果显示低剂量LPS(0.001 µg/mL)能够增加Desmin表达,而当LPS浓度增加到0.1 µg/mL处理细胞时,Desmin的表达与未刺激组相比,下降有统计学差异(图2A, B)。用0.01 µg/mL LPS以不同时间点(0、1、3、6、9、12、18 h)处理细胞,Western blot检测Desmin的表达发现,LPS刺激LX-2仅1 h时,能够增加Desmin表达,随后出现下降趋势,当刺激时间>12 h时,Desmin的表达下降,与对照组相比,差异有统计学意义(图2C, D)。

2.3 LPS对肝星状细胞凋亡相关蛋白表达影响
用不同浓度的LPS(0、0.001、0.01、0.1、1.0、10 µg/mL)处理LX-2细胞6 h后,Western blot检测active Caspase3的蛋白表达,结果显示在LPS

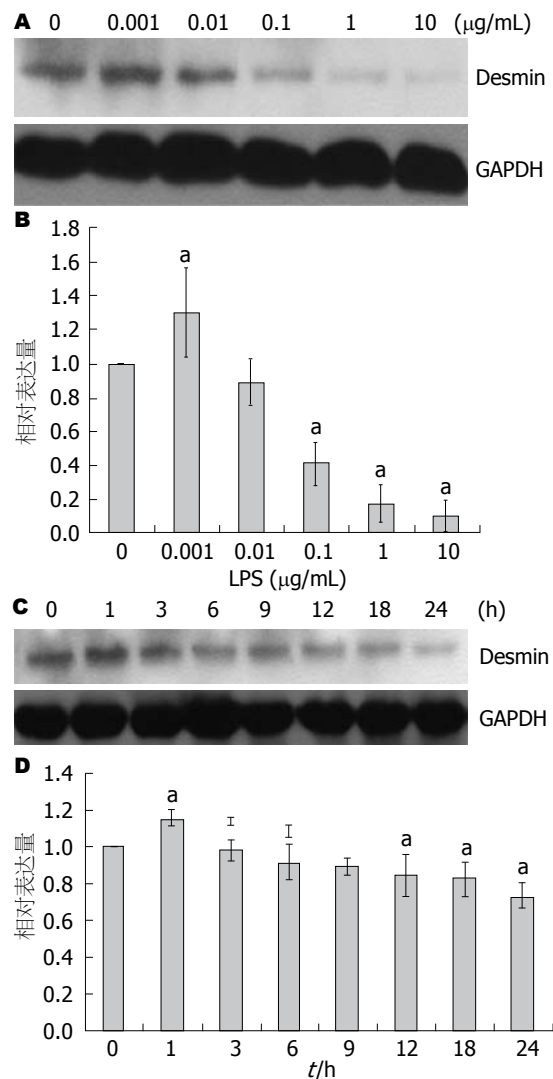


图2 LPS刺激LX-2细胞后Desmin表达的Western blot结果。A, B: LPS不同刺激剂量的影响; C, D: LPS不同刺激时间的影响; ^a*P*<0.05 vs 未刺激组。LPS: 脂多糖; Desmin: 结蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

为1.0 µg/mL时, active Caspase3开始表达(图3A, B)。用0.01 µg/mL LPS处理LX-2细胞不同的时间(0、1、3、6、9、12、18、24 h)后,Western blot检测active Caspase3表达情况,发现随着时间的推移, active Caspase3在12 h出现表达,24 h稍有增加(图3C, D)。

3 讨论

肝星状细胞是一种贮存脂滴的肝非实质细胞,位于肝脏窦周间隙^[10],是肝纤维化过程中细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主要来源细胞。在慢性肝损伤时,HSCs通过复杂的机制持续激活、增殖,转化为肌成纤维细胞,并参与调节ECM的代谢过程^[11]。大量实验研究表明,肝星状细胞活化并分泌大量细胞外基质是肝纤维化形

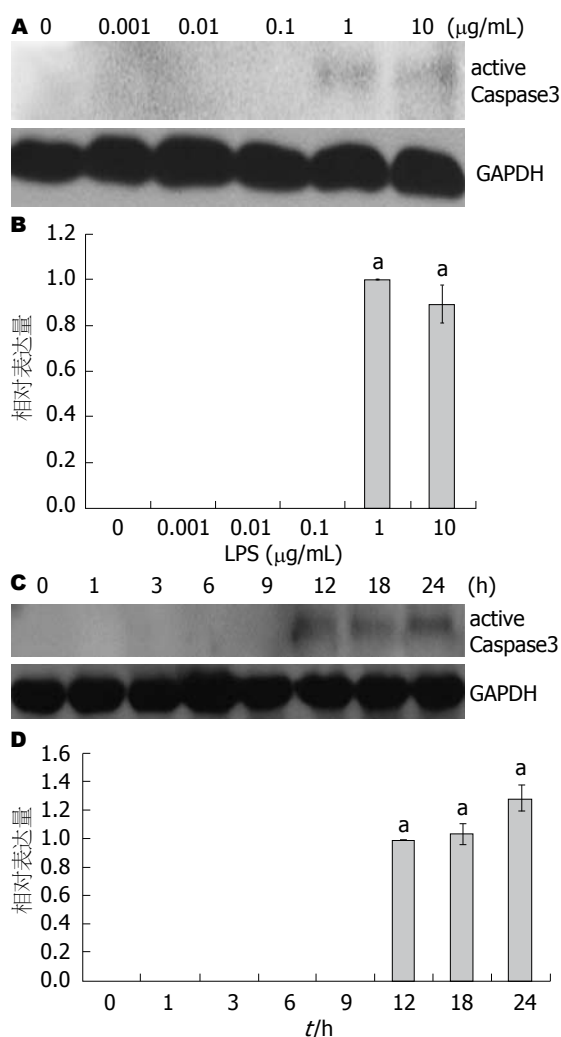


图3 LPS刺激LX-2细胞后active Caspase3表达的Western blot结果. A, B: LPS不同刺激剂量的影响; C, D: LPS不同刺激时间的影响; * $P < 0.05$ vs 未刺激组. LPS: 脂多糖; Desmin: 结蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

成的重要机制^[12,13].

本实验中我们用LPS刺激人肝星状细胞LX-2, 结果发现, 在一定时间内, 用适当浓度的LPS刺激HSCs相应时间后, 可引起HSCs的增殖活化明显增强. 但随着LPS刺激浓度增加以及刺激时间的延长, LPS刺激HSCs后同样会引起HSCs的增殖活化下降. 实验中我们进一步应用Western blot检测了凋亡指标active Caspase3, 结果显示用1.0 µg/mL和10 µg/mL LPS持续刺激细胞6 h后, 可检测到active Caspase3表达增加; 用0.01 µg/mL LPS刺激细胞12 h后, 在细胞中也可发现active Caspase3出现表达. Caspase3是凋亡研究过程中使用最为广泛的分子之一, 隶属于一种凋亡相关的蛋白酶家族, 在细胞内以非活性形式存在, 当细胞凋亡时, Caspase3能够被自身或上游凋亡分子水解, 产生17和12 kDa的活性

亚单位. 本研究中直接采用抗active Caspase3抗体, 检测17 kDa的活性亚单位. 该活性亚单位的表达增强, 可能是由于大剂量的LPS长时间刺激细胞, 会产生一定的细胞毒作用而诱导凋亡, 引起细胞死亡. 因此, 结果证实, LPS对HSCs刺激具有激活和损伤双重作用^[14,15], LPS刺激细胞时间过长时, 主要表现为对HSCs的损伤效应, 使细胞活力、细胞的增殖能力和合成代谢能力均受损, 甚至诱导细胞凋亡. LPS刺激细胞时间较短时, 主要表现为激活效应, 细胞可抵抗损伤的影响, 可大大增加自身的增殖能力和合成代谢的能力. 同样, LPS刺激细胞的浓度高低, 也会产生相应的激活和损伤效应^[5,16]. 综合实验结果, 我们认为, LPS在不同的刺激条件下, 能够诱导LX-2细胞活化和凋亡状态的改变, 其中, 低浓度(0.001 µg/mL)LPS短时间(6 h)刺激LX-2, 可以较好的刺激肝星状细胞的活化, 能够得到预期的实验结果.

4 参考文献

- 王雷, 任成山. 内毒素与慢性肝病的关系研究进展. 中华肝脏病杂志 2003; 11: 251-253
- 高恒, 祁克宗, 程玉磊. 内毒素抑制剂的的研究进展. 上海畜牧兽医通讯 2006; 6: 10-12
- Soares JB, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, Leite-Moreira A. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. *Hepatol Int* 2010; 4: 659-672 [PMID: 21286336 DOI: 10.1007/s12072-010-9219-x]
- 杨德民, 王健. LPS诱导HSC增殖与提高其胶原表达水平的细胞模型研究. 中国现代医生 2008; 46: 29-30
- 贾晋斌, 吴晗, 杨东仁, 陆伦根, 韩德五. 内毒素刺激Kupffer细胞对肝星状细胞前胶原基因表达的影响. 胃肠病学 2011; 16: 459-463
- 华静, 邱德凯, 李继强, 李恩灵. 内毒素受体在肝星状细胞的表达及其作用. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 817-820
- 何志国, 赵永忠. Toll样受体与肝纤维化关系的研究进展. 医学综述 2011; 17: 3243-3245
- 郭建红, 杨丽红. 脂多糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝细胞凋亡的影响. 山西医科大学学报 2011; 42: 529-531
- 魏思东, 李金政, 龚建平, 刘作金, 游海波, 陈勇, 吴传新. GITRL在内毒素诱导的Kupffer细胞凋亡中的作用研究. 细胞与分子免疫学杂志 2011; 27: 602-607
- 解淑蕊, 张晓岚. 肝星状细胞的起源、分布与表型转变. 细胞生物学杂志 2009; 31: 45-50
- Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 195-206 [PMID: 21497738 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.005]
- Bartley PB, Ramm GA, Jones MK, Ruddell RG, Li Y, McManus DP. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of Schistosoma japonicum egg-induced fibrosis. *Int J Parasitol* 2006; 36: 993-1001 [PMID: 16806222 DOI: 10.1016/j.ijpara.2006.04.015]

■应用要点

LPS在低浓度短时间刺激LX-2时, 可以较好地刺激肝星状细胞的活化, LPS较高浓度或较长时间刺激LX-2时, 可以抑制肝星状细胞的活化和增殖, 甚至促进肝星状细胞的凋亡, 该结果为进一步观察LPS在体内肝纤维化进展过程中的具体作用提供一定的理论依据.

■同行评价

本文研究了促炎症因子脂多糖对人肝星状细胞增殖、活化和凋亡相关蛋白表达的影响,旨在进一步阐明脂多糖在肝纤维化发生中的作用机制。研究结果发现脂多糖在不同的条件和作用时间下能对肝星状细胞增殖、活化产生了不同的影响,而且能诱导细胞凋亡。该文有一定的科学及临床意义。

- 13 Parola M, Marra F, Pinzani M. Myofibroblast - like cells and liver fibrogenesis: Emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 58-66 [PMID: 18022682 DOI: 10.1016/j.mam.2007.09.002]
- 14 Bauer M, Bauer I, Sonin NV, Kresge N, Baveja R, Yokoyama Y, Harding D, Zhang JX, Clemens MG. Functional significance of endothelin B receptors in mediating sinusoidal and extrasinusoidal effects of endothelins in the intact rat liver. *Hepatology* 2000; 31: 937-947 [PMID: 10733551 DOI: 10.1053/he.2000.5922]
- 15 Friedman SL. Stellate cell activation in alcoholic fibrosis--an overview. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23: 904-910 [PMID: 10371412 DOI: 10.1097/00000374-199905000-00020]
- 16 王健, 牛建昭, 河福金, 于世赢, 白锦文, 李或, 赵丽云, 赵福建, 王继峰. 脂多糖诱导大鼠肝星状细胞增殖与提高其胶原表达水平的细胞模型研究. *中西医结合肝病杂志* 2003; 13: 92-94

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)

NSAIDs相关性大鼠小肠黏膜PGE₂、COX的表达及药物保护机制

丁瑞峰, 郭元虎, 韩文鹏, 王爱鱼, 田晓娟

丁瑞峰, 郭元虎, 王爱鱼, 田晓娟, 包头医学院第一附属医院
消化科 内蒙古自治区包头市 014010

韩文鹏, 山东青岛市城阳人民医院消化科 山东省青岛市
266109

内蒙古自治区自然科学基金资助项目, No. 2011MS1173

作者贡献分布: 此课题由丁瑞峰、韩文鹏、郭元虎及王爱鱼设计; 研究过程由丁瑞峰与韩文鹏操作完成; 大体病理观察、蛋白印迹、ELISA检测由韩文鹏、田晓娟及丁瑞峰完成; 数据分析由丁瑞峰与韩文鹏完成; 本论文写作由丁瑞峰、韩文鹏、郭元虎及王爱鱼完成。

通讯作者: 丁瑞峰, 副教授, 副主任医师, 014010, 内蒙古自治区包头市昆区林荫路41号, 包头医学院第一附属医院消化科。

rfding721115@163.com

电话: 0472-2178347

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-09-08

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-28

Expression of PGE₂ and COX in intestinal injury induced with non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats: Implications for protective effects of drugs

Rui-Feng Ding, Yuan-Hu Guo, Wen-Peng Han,
Ai-Yu Wang, Xiao-Juan Tian

Rui-Feng Ding, Yuan-Hu Guo, Ai-Yu Wang, Xiao-Juan Tian, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia, China

Wen-Peng Han, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Chengyang, Qingdao 266109, Shandong Province, China

Correspondence to: Rui-Feng Ding, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, 41 Linyin Road, Baotou 014010, Inner Mongolia, China. rfding721115@163.com

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-09-08

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of prostaglandin E₂ (PGE₂), cyclooxygenase 1 (COX-1) and cyclooxygenase 2 (COX-2) in diclofenac sodium-induced intestinal injury in rats and to analyze their implications for protective effects of drugs.

METHODS: Thirty-two male Wistar rats were randomly and equally divided into four groups: a normal control group (given normal saline), a

model control group (given diclofenac sodium), and two treatment groups (given Jinghua Weikang Jiaowan and esomeprazole, respectively). Except for the normal control group, intestinal injury was induced with diclofenac sodium in the other groups. Jinghua Weikang Jiaowan and esomeprazole were administered in the two treatment groups from the day before diclofenac sodium was given. Intestinal injury was observed by microscopy. The content of PGE₂ in the small intestine tissues was tested by ELISA. The expression of COX-1 and COX-2 proteins was detected by Western blot.

RESULTS: Compared to the normal control group, the morphological score increased significantly in the model control group (4.63 ± 0.52 vs 0.00 ± 0.00 , $P < 0.05$); however, the morphological score was significantly lower in the two treatment groups than in the model control group (1.88 ± 0.99 , 2.75 ± 1.28 , both $P < 0.05$). Compared to the normal control group, the content of PGE₂ was significantly lower in the model control group ($19.32 \text{ ng/L} \pm 8.22 \text{ ng/L}$ vs $36.64 \text{ ng/L} \pm 3.27 \text{ ng/L}$, $P < 0.05$); however, the content of PGE₂ increased significantly in the two treatment group increased significantly compared to the model control group ($29.51 \text{ ng/L} \pm 7.61 \text{ ng/L}$, $29.20 \text{ ng/L} \pm 7.51 \text{ ng/L}$, both $P < 0.05$). The expression level of COX-1 was significantly lower in the model control group than in the normal control group (0.47 ± 0.32 vs 0.78 ± 0.39 , $P < 0.05$); however, the expression of COX-1 increased significantly in the treatment group compared to the model control group (1.29 ± 0.63 , 1.53 ± 1.00 , both $P < 0.05$). Compared to the normal control group, the expression of COX-2 increased significantly in the model control group (1.00 ± 0.72 vs 0.00 ± 0.00 , $P < 0.05$); however, the expression of COX-2 increased significantly in the Jinghua Weikang Jiaowan treatment group (6.86 ± 9.81 , $P < 0.05$). Compared to the model control group, the expression of COX-2 increased in the esomeprazole treatment group, but the difference was not significant (2.59 ± 2.87 , $P > 0.05$).

■背景资料

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)是目前最为广泛的处方药物之一,不良反应占所有药物不良反应的1/3,其中胃肠道损伤最明显,小肠组织比胃组织更易受到NSAIDs的影响。临床上还没有一种药物可以完全取代他,因此NSAIDs小肠损伤的机制及预防成为研究的热点。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

■研发前沿

NSAID相关性小肠损伤的主要临床表现包括: NSAIDs肠病、小肠溃疡、狭窄、穿孔和隔膜样改变。NSAIDs引起的小肠损伤的机制还不清楚,目前主要集中在以下几方面:“三级打击”学说;COX-1和COX-2的双重抑制学说;NO和iNOS损伤学说;肠肝循环学说。

CONCLUSION: Decreased content of PGE₂ in the small intestine tissue may be associated with diclofenac sodium-induced small intestinal injury. Jinghua Weikang Jiaowan and esomeprazole exert preventive effects against diclofenac sodium-induced intestinal injury possibly by raising the level of PGE₂. The therapeutic effect of Jinghua Weikang Jiaowan may be related to high expression of COX-1 and COX-2, and that of esomeprazole may be related to the high expression of COX-1.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Intestinal damage; Non-steroidal anti-inflammatory drug; Prostaglandin E₂; Cyclooxygenase

Ding RF, Guo YH, Han WP, Wang AY, Tian XJ. Expression of PGE₂ and COX in intestinal injury induced with non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats: Implications for protective effects of drugs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3241-3246 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3241>

摘要

目的: 双氯芬酸灌胃建立非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)相关性大鼠小肠黏膜损伤模型,研究大鼠小肠黏膜前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、环氧合酶-1(cyclooxygenase 1, COX-1)和环氧合酶-2(COX-2)的表达及药物的作用机制。

方法: 32只♂Wistar大鼠随机分为空白组、实验对照组、药物干预组(荆花胃康胶丸组、埃索美拉唑组)。实验对照组和药物干预组给予双氯芬酸,药物干预组提前1 d分别给予荆花胃康胶丸和埃索美拉唑。空白组给予生理盐水。处死大鼠后显微镜下观察大鼠小肠损伤情况,取小肠组织ELISA法检测小肠组织PGE₂含量,Western blot法检测小肠组织COX-1、COX-2蛋白表达。

结果: 与空白对照组相比,实验对照组大鼠小肠大体评分(4.63±0.52 vs 0.00±0.00)明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$);与实验对照组相比,荆花胃康组、埃索美拉唑组大鼠小肠大体评分(1.88±0.99, 2.75±1.28)明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与空白组相比,实验对照组大鼠小肠黏膜PGE₂(19.32 ng/L±8.22 ng/L vs 36.64 ng/L±3.27 ng/L)明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与实验对照组相比,荆花胃康组、埃索美拉唑组大鼠小肠PGE₂(29.51 ng/L±7.61 ng/L; 29.20

ng/L±7.51 ng/L)明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。与空白组相比,实验对照组大鼠小肠黏膜COX-1(0.47±0.32 vs 0.78±0.39)明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与实验对照组相比,荆花胃康组、埃索美拉唑组大鼠小肠COX-1(1.29±0.63, 1.53±1.00)明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。与空白组相比,实验对照组大鼠小肠黏膜COX-2(1.00±0.72 vs 0.00±0.00)明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与实验对照组相比,荆花胃康组大鼠小肠黏膜COX-2(6.86±9.81)明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与实验对照组相比,埃索美拉唑组大鼠小肠黏膜COX-2(2.59±2.87)增加,差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 双氯芬酸可以引起典型的NSAIDs相关性小肠损伤。NSAIDs相关性小肠损伤与PGE₂含量降低有关。荆花胃康和埃索美拉唑通过提高小肠黏膜PGE₂含量,预防NSAIDs小肠损伤。荆花胃康引起小肠黏膜PGE₂含量的升高,可能与其增加小肠COX-1和COX-2含量有关。埃索美拉唑引起小肠黏膜PGE₂含量的升高,可能与其增加小肠COX-1含量有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 小肠损伤; 非甾体类消炎药; 前列腺素E₂; 环氧合酶

核心提示: 本研究提示双氯芬酸可以引起典型的非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)相关性小肠损伤。NSAIDs相关性小肠损伤与小肠黏膜前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)含量降低有关。荆花胃康和埃索美拉唑通过对环氧合酶-1(cyclooxygenase 1, COX-1)和COX-2调控,提高小肠黏膜PGE₂含量,减轻NSAIDs小肠损伤。

丁瑞峰, 郭元虎, 韩文鹏, 王爱鱼, 田晓娟. NSAIDs相关性大鼠小肠黏膜PGE₂、COX的表达及药物保护机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3241-3246 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3241>

0 引言

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)已有100多年的临床应用史,是目前最为广泛的处方药物之一。美国FDA统计,NSAIDs不良反应占所有药物不良反应的1/3,其中胃肠道损伤最明显。随着内镜技术的发展,发现小肠组织比胃组织更易受到NSAIDs的影响^[1],

■相关报道

Takeuchi等报道甾体类抗炎药(如消炎痛),通过抑制COX活性而减少黏膜PGE₂的含量,引起小肠损伤。

但是目前临床上还没有一种药物可以完全取代他。本研究通过双氯芬酸连续灌胃建立NSAIDs相关性大鼠小肠损伤模型, 研究大鼠小肠黏膜前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)与环氧合酶-1(cyclooxygenase 1, COX-1)、COX-2的表达, 以及荆花胃康胶丸、埃索美拉唑是否对NSAIDs肠病有保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级成年♂Wistar大鼠32只, 体质量180-200 g, 由内蒙古大学实验动物中心提供[实验动物机构许可证号: SCXK(蒙)2007-0001]。双氯芬酸钠肠溶片(白云山汤阴东泰药业有限责任公司), 国药准字H41024221, 批号110703; 埃索美拉唑镁肠溶片(阿斯利康制药有限公司), 国药准字H20046379, 批号1106083; 荆花胃康胶丸(天津天士力制药股份有限公司), 国药准字Z10970067, 批号110609; PGE₂ ELISA试剂盒购自美国RB公司, COX-1、COX-2多克隆抗体购自英国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 分组: 32只♂Wistar成年大鼠, 随机分为4组, 空白组、实验对照组、药物干预组(荆花胃康组、埃索美拉唑组), 每组8只。

1.2.2 模型制备: 参照文献[2]及预实验结果, 依据各药物人体有效治疗剂量及预实验结果计量, 通过人与动物药物剂量换算公式计算得出各药物给药剂量(荆花胃康、埃索美拉唑所用剂量相当于人体有效治疗剂量的6倍), 双氯芬酸15 mg/(kg·d), 荆花胃康30 mg/(kg·d), 埃索美拉唑4.17 mg/(kg·d), 每日分两次给药, 将药物溶于1.0 mL生理盐水中。空白对照组生理盐水1.0 mL灌胃。实验对照组和预防组灌胃给予双氯芬酸, 连续给药3 d。预防组提前1 d给予预防药物, 即连续给预防药4 d。末次给药后大鼠禁食, 自由取水, 24 h后终止实验。

1.2.3 标本处理: 将大鼠脱颈致死, 仰卧固定于实验台上。腹部正中切口打开腹腔, 小心游离小肠组织。取全段小肠, 沿肠系膜对侧切开小肠肠管, 于PBS液中冲洗干净, 距幽门15 cm取小肠组织2段置液氮灌中, 以备Western blot检测COX-1、COX-2和ELISA检测PGE₂。

1.2.4 肠黏膜损伤评分: 肠黏膜损伤大体形态评分按下列标准进行^[3]: 0分: 无损伤; 1分: 局部充血、水肿但未出现溃疡; 2分: 有溃疡, 但不伴黏膜明显充血水肿等炎性表现; 3分: 有溃疡, 且伴一处

黏膜炎症; 4分: 有多处溃疡和炎症, 溃疡<1 cm; 5分: 有多处溃疡和炎症, 且至少一处溃疡>1 cm。

1.2.5 ELISA检测PGE₂: 各标本组织块称重50 mg于匀浆管中, 往匀浆管加入450 mL PBS液。冰水环境中充分碾磨组织。低温离心匀浆, 取上清液保存待用, 按照试剂盒说明完成实验。

1.2.6 Western blot检测COX-1、COX-2: 组织研磨、离心, 取上清液, BCA定量, 计算上样量, 煮样品。配制电泳胶, 加样, 浓缩胶恒压90 V, 分离胶恒压160 V。溴酚蓝到分离胶的下缘时停止电泳。半干电转移仪, 用PVDF膜, 恒流300 mA, 时间为45 min。5%TBS-T(-20)脱脂奶粉封闭1 h。孵育一抗: 杂交袋中孵育, 抗体浓度(COX-1为1:200; COX-2为1:150; β-actin为1:5000), 4℃下孵育过夜洗涤: 用TBS-T缓冲液洗膜5 min×3次, 孵育二抗: HRP标记的二抗孵育60 min后洗涤, 浓度(COX-1 1:2000; COX-2 1:3000; β-actin 1:10000)。曝光: 采用ECL化学发光法暗室曝光, 显影, 定影, IPP软件灰度分析。

统计学处理 所有实验数据均采用PAWS18.0统计软件分析处理, 实验结果以mean±SD。大体评分应用秩和检验, 统计量应用Mann-Whitney U检验。PGE₂、COX-1和COX-2结果如方差齐则应用单因素方差分析, 如果不齐则应用秩和检验。结果均以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况观察 空白对照组大鼠饮食、活动、进水和大便正常。模型组及药物干预组大鼠给药第2天部分出现懒动、食欲下降、毛发枯燥、无光泽、大便不成形、腹壁毛发潮湿。模型组大鼠造模第3天濒死1只。解剖发现大鼠腹腔出现大量血性腹水, 伴恶臭。肠管见充血、粘连、穿孔, 表面覆着大量黄色浓稠苔。药物干预组无明显异常。

2.2 小肠大体形态学观察 空白组大鼠未见小肠损伤。实验对照组大鼠小肠可见大量溃疡, 溃疡呈扁椭圆形, 长轴与小肠垂直, 溃疡多沿小肠系膜侧分布, 溃疡周围见黏膜充血水肿, 其中2只大鼠可见局部肠坏死。小肠大体评分实验对照组明显高于空白组, 差异有显著性意义(P<0.05)。荆花胃康组大鼠小肠可见局部充血、水肿, 偶见小溃疡, 但大多不伴周围黏膜明显充血水肿。大鼠小肠损伤大体评分荆花胃康组明显低于实验对照组, 差异有统计学意义(P<0.05)。埃索美拉唑组大鼠小肠可见黏膜充

■创新盘点

本文观察中药荆花胃康胶丸对大鼠NSAID相关小肠损伤的保护, 及荆花胃康对大鼠小肠黏膜前列腺素E₂及环氧合酶的影响, 部分解释了荆花胃康对NSAID相关小肠损伤的保护机制。已有研究显示PPI对NSAID相关小肠损伤有保护作用, 但本文首先研究了埃索美拉唑对NSAID相关大鼠小肠黏膜前列腺素及环氧合酶的影响。

■应用要点

本文研究提示NSAID相关性大鼠小肠损伤与小肠黏膜E₂较少相关,提示荆花胃康胶丸对大鼠NSAID相关性大鼠小肠损伤有保护作用,为其临床应用于NSAID相关小肠损伤的预防提供了基础实验依据。

表 1 各组大鼠小肠评分结果 ($n = 8$, mean \pm SD)

分组	大体评分结果	PGE ₂ (ng/L)	COX-1灰度值	COX-2灰度值
空白组	0.00 \pm 0.00	36.64 \pm 3.27	0.78 \pm 0.39	0.00 \pm 0.00
实验对照组	4.63 \pm 0.52 ^a	19.32 \pm 8.22 ^a	0.47 \pm 0.32	1.00 \pm 0.72 ^a
荆花胃康组	1.88 \pm 0.99 ^c	29.51 \pm 7.61 ^c	1.29 \pm 0.63 ^c	6.86 \pm 9.81 ^c
埃索美拉唑组	2.75 \pm 1.28 ^c	29.20 \pm 7.51 ^c	1.53 \pm 1.00 ^c	2.59 \pm 2.87

^a $P < 0.05$ vs 空白组, ^c $P < 0.05$ vs 实验对照组. PGE₂: 前列腺素E₂; COX: 环氧合酶。

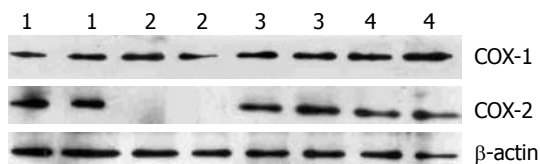


图 1 蛋白印迹结果. 1: 实验对照组; 2: 空白组; 3: 荆花胃康组; 4: 埃索美拉唑组. COX: 环氧合酶。

血水肿, 小肠损伤大体评分埃索美拉唑组明显低于实验对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

2.3 ELISA检测PGE₂ 实验对照组小肠组织PGE₂明显低于空白组, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 荆花胃康组、埃索美拉唑组小肠组织PGE₂明显高于实验对照组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表1)。

2.4 Western blot检测COX-1、COX-2 Western blot法检测各组大鼠小肠组织COX-1、COX-2含量。空白对照组小肠组织只有COX-1表达, 无COX-2表达。实验对照组两者都表达, COX-2较空白对照组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); COX-1较空白组减低, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。荆花胃康组COX-1、COX-2较实验对照组显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 埃索美拉唑组COX-1较实验对照组显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), COX-2较实验对照组增加, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1, 图1)。

3 讨论

NSAIDs药物不良反应的严重性早已被人们认识到, 有学者提出NSAIDs不良反应主要在小肠而不是在胃及十二指肠^[4]。NSAIDs相关性小肠损伤的主要临床表现包括: NSAIDs肠病、小肠溃疡、狭窄、穿孔和隔膜样改变。NSAIDs引起的小肠损伤的机制还不清楚, 目前主要集中在以下几方面: “三级打击”学说^[5]; COX-1和COX-2的双重抑制学说^[6]; NO和iNOS损伤学说^[7]; 肠肝循环学说^[8]。本研究证实双氯芬酸能够造成严重的

小肠损伤。双氯芬酸灌胃3 d后实验大鼠小肠黏膜出现了大量溃疡, 且溃疡长轴与小肠垂直, 集中在肠系膜侧。这与Pozzoli等^[9]报道一致。双氯芬酸是非特异性环氧合酶抑制剂, 通过抑制COX活性, 干扰花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢, 从而阻止外周和中枢PGs的合成, 我们的研究显示小肠损伤与小肠黏膜PGE₂含量有关, 实验对照组大鼠小肠黏膜损伤大体评分较空白组明显增加, 实验对照组小肠PGE₂含量较空白组降低。前列腺素是一种具有局部保护作用的炎症因子, PGE₂通过扩张血管, 进而增加胃肠黏膜的血流量, 还可以抑制炎症细胞的黏附作用, 稳定细胞溶酶体膜、抑制溶酶体释放等细胞保护作用^[10]。PGE₂生物合成存在两种: 瞬时型和延时型。瞬时型为受到刺激后即合成, 延时型则是在诱导后数小时才发生。这种不同与PGE₂合成酶和环氧合酶有关。PGE₂合成酶分为3种: 胞质PGE₂合成酶、膜相关PGE₂合成酶1、膜相关PGE₂合成酶2。胞质PGE₂合成酶是结构酶广泛表达于各种细胞核组织, 和COX-1一起参与生理性PGE₂合成, 维持细胞内稳态。COX-1是构建型环氧合酶, 几乎表达于所有的组织及细胞中。炎症应激情况下或受到某些激素和生长因子刺激时COX-1可轻度增高^[11]。本实验中实验对照组COX-1较空白组减低, 差异无统计学意义。COX-2是诱导酶, 正常情况下, 各组织细胞中仅表达非常少量或不表达COX-2, 但当病理状态下及炎症处COX-2的表达急剧增加, 尤其是在急性炎症反应中更加明显。我们的研究提示实验对照组COX-2的表达明显增加, 空白组COX-2无表达。Murakami等^[12]发现当膜相关PGE₂合成酶1和COX-2共染HEK293细胞株时, 无论是外源性还是内源性AA都会诱导产生大量的PGE₂; 而当膜相关PGE₂合成酶1和COX-1共染时则不然, 这样说明了COX-2和膜相关PGE₂合成酶1, 一起参与炎症反应, 催化延迟型PGE₂产生。Takeuchi等^[13]发现不管是COX-1特异性抑制剂SC-560, 还是特异性COX-2抑制剂罗非

昔布, 都不能单独引起小肠黏膜的损伤. SC-560 仅引起肠蠕动减弱、细菌侵入和诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达增加, 但小肠黏膜并未受损. 可能与同时引起COX-2表达上调, 产生保护性的PGE₂, 从而抵消抑制COX-1引起的PGE₂减少. 如果同时应用COX-2抑制剂, 则可以引起小肠损伤.

荆花胃康胶丸是从土荆芥和水团花中提取的挥发油按一定比只组成的复方制剂, 土荆芥具有健胃止痛作用, 水团花有清热利湿、散寒化淤功效, 是一种治疗消化性溃疡及慢性浅表性胃炎的新型中成药. 朱国琴等^[14]研究发现荆花胃康胶丸对乙醇所致大鼠急性胃黏膜损伤有预防及修复治疗作用, 其作用机制可能与增加胃黏膜中PGE₂和EGF有关. 本实验提示荆花胃康组小肠黏膜损伤大体评分较实验对照组明显减轻, 荆花胃康组小肠黏膜PGE₂、COX-1、COX-2含量较实验对照组明显增加, 提示荆花胃康可能通过增加COX-1、COX-2诱导PGE₂合成增加而保护小肠黏膜. 埃索美拉唑是奥美拉唑的S-异构体, 与其他质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)一样, 为胃壁细胞质子泵H⁺-K⁺-ATP酶的特异性抑制剂, 具有高效持久的抑酸效果, 较好的安全性和较低的不良反应发生率. 有临床证据表明: 对于需要长期接受NSAID药物治疗的老年患者, 埃索美拉唑能够非常有效地预防非甾体类抗炎药引起的肠道损伤和上消化系溃疡, 其疗效优于其他PPI^[15]. 本实验提示埃索美拉唑组小肠黏膜损伤大体评分较实验对照组明显减轻, 埃索美拉唑组小肠黏膜PGE₂、COX-1含量较实验对照组明显增加, 差异有统计学意义, 埃索美拉唑组小肠黏膜COX-2含量较实验对照组增加, 差异无统计学意义, 提示埃索美拉唑可能通过增加COX-1诱导PGE₂合成增加而保护小肠黏膜, COX-2的增加对PGE₂合成增加也应起一定的作用. 本课题研究表明, NSAIDs相关性肠病的发病与PGE₂含量减少有关. 荆花胃康和埃索美拉唑正是通过增加黏膜PGE₂含量起到预防作用, PGE₂含量的增加可能与他们上调小肠黏膜COX-1有关. 荆花胃康组黏膜COX-2含量增高可能也起到部分保护作用. 然而结果显示埃索美拉唑组COX-2含量未明显升高, 可能是PPI具有抑制炎症反应有关^[16].

4 参考文献

- 1 Smale S, Tibble J, Sigthorsson G, Bjarnason I. Epidemiology and differential diagnosis of NSAID-induced injury to the mucosa of the small intestine. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15: 723-738 [PMID: 11566037 DOI: 10.1053/bega.2001.0231]
- 2 Yamada T, Deitch E, Specian RD, Perry MA, Sartor RB, Grisham MB. Mechanisms of acute and chronic intestinal inflammation induced by indomethacin. *Inflammation* 1993; 17: 641-662 [PMID: 7906675 DOI: 10.1007/BF00920471]
- 3 Zhu F, Qian J, Pan G. [The establishment of TNBS-induced experimental colitis]. *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 1998; 20: 271-278 [PMID: 11367691]
- 4 Whittle BJ. Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat. *Gastroenterology* 1981; 80: 94-98 [PMID: 6778761]
- 5 Fortun PJ, Hawkey CJ. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 169-175 [PMID: 15711208 DOI: 10.1097/01.mog.0000153314.51198.58]
- 6 Hotz-Behofsits CM, Walley MJ, Simpson R, Bjarnason IT. COX-1, COX-2 and the topical effect in NSAID-induced enteropathy. *Inflammopharmacology* 2003; 11: 363-370 [PMID: 15035790 DOI: 10.1163/156856003322699546]
- 7 Tuteja N, Chandra M, Tuteja R, Misra MK. Nitric Oxide as a Unique Bioactive Signaling Messenger in Physiology and Pathophysiology. *J Biomed Biotechnol* 2004; 2004: 227-237 [PMID: 15467163 DOI: 10.1155/S1110724304402034]
- 8 罗佳, 王惠吉. 非甾体抗炎药对小肠黏膜的损伤作用. *胃肠病学* 2008; 13: 536-539
- 9 Pozzoli C, Menozzi A, Grandi D, Solenghi E, Ossiprandi MC, Zullian C, Bertini S, Cavestro GM, Coruzzi G. Protective effects of proton pump inhibitors against indomethacin-induced lesions in the rat small intestine. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2007; 374: 283-291 [PMID: 17151854 DOI: 10.1007/s00210-006-0121-y]
- 10 Gurleyik G, Ozturk E, Gurleyik E, Aker F, Aktekin A, Ozkara S, Saglam A. Prostaglandins E1 and E2 analogues ameliorate mucosal injury secondary to distal colonic obstruction. *J Invest Surg* 2003; 16: 283-288 [PMID: 14527886 DOI: 10.1080/713829715]
- 11 Wacker MJ, Best SR, Kosloski LM, Stachura CJ, Smoot RL, Porter CB, Orr JA. Thromboxane A2-induced arrhythmias in the anesthetized rabbit. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H1353-H1361 [PMID: 16339832]
- 12 Murakami M, Naraba H, Tanioka T, Semmyo N, Nakatani Y, Kojima F, Ikeda T, Fueki M, Ueno A, Oh S, Kudo I. Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2000; 275: 32783-32792 [PMID: 10869354 DOI: 10.1074/jbc.M003505200]
- 13 Takeuchi K, Tanaka A, Kato S, Amagase K, Satoh H. Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 459-466 [PMID: 20074562 DOI: 10.1016/j.cca.2009.12.026]
- 14 朱国琴, 施瑞华, 沈健, 周清清, 郝波. 荆花胃康胶丸对大鼠胃黏膜的保护机制. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 505-508
- 15 Blandizzi C, Tuccori M, Colucci R, Gori G, Fornai M, Antonioli L, Ghisu N, Del Tacca M. Clinical efficacy of esomeprazole in the prevention and healing of

■名词解释

“三级打击”学说: 是目前比较推崇的损伤机制. 首先, NSAIDs吸收进入小肠细胞, 引起线粒体氧化磷酸化解偶联. 然后, 氧化磷酸化解偶联引起细胞损伤, 同时细胞间紧密连接结构减少, 细胞通透性增加; 最后由于小肠黏膜通透性增加, 肠道内的胆汁酸、蛋白水解酶、胰酶、食物和细菌等侵袭受损小肠, 导致白细胞趋化聚集, 最终引起小肠非特异性炎症. NO和iNOS损伤学说: 诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)主要存在于巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞、心肌和肾髓质细胞中, 且以二聚体形式发挥作用. NSAIDs小肠损伤时iNOS表达升高. NO是免疫系统的双刃剑, 生理剂量NO可以增加肠道腺体分泌, 抑制肠道运动, 抑制细菌的移位. 然而过量的NO则阻断线粒体功能, 产生过量氧自由基, 增加肠道通透性. 进一步诱发肠道有害物质及细菌的侵袭和移位, 造成小肠黏膜损伤; 肠肝循环学说: 大多数NSAIDs吸收至肝脏后与胆汁结合. 约20%-60%的药物随胆汁分泌进入小肠, 即NSAIDs的肝肠循环.

■同行评价

本研究探讨了NSAIDs相关性小肠损伤中小肠黏膜PGE2与COX-1和COX-2的表达,及荆花胃康和埃索美拉唑对NSAIDs相关性小肠损伤的预防,有一定的参考价值。

- gastrointestinal toxicity associated with NSAIDs in elderly patients. *Drugs Aging* 2008; 25: 197-208 [PMID: 18331072 DOI: 10.2165/00002512-200825030-00003]
- 16 Kedika RR, Souza RF, Spechler SJ. Potential anti-

inflammatory effects of proton pump inhibitors: a review and discussion of the clinical implications. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2312-2317 [PMID: 19714466 DOI: 10.1007/s10620-009-0951-9]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

黄连素、大黄素、五味子及黄芩苷对幽门螺杆菌多重耐药株的体外抑菌作用

吴明慧, 黄衍强, 黄赞松, 周喜汉, 喻文强, 苏建伟

吴明慧, 广西医科大学研究生院 广西壮族自治区南宁市 530021

黄衍强, 右江民族医学院微生物学和免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000

黄赞松, 周喜汉, 喻文强, 苏建伟, 右江民族医学院消化疾病研究所 附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

吴明慧, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFAA053172

广西教育厅重点课题基金资助项目, No. 201202ZD078

广西卫生厅课题基金资助项目, No. Z2010082

作者贡献分布: 此课题由吴明慧、黄赞松及黄衍强设计; 研究过程由吴明慧、周喜汉、喻文强及苏建伟操作完成; 数据分析由吴明慧与黄衍强完成; 本论文写作由吴明慧与黄衍强完成; 黄赞松负责本课题的理论指导。

通讯作者: 黄赞松, 教授, 533000, 广西壮族自治区百色市城东路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所, 附属医院消化内科。1019846481@qq.com

收稿日期: 2013-07-25 修回日期: 2013-08-03

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

In vitro bacteriostatic effect of berberine, emodin, schisandra, and baicalin on multidrug resistant strains of *Helicobacter pylori*

Ming-Hui Wu, Yan-Qiang Huang, Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Wen-Qiang Yu, Jian-Wei Su

Ming-Hui Wu, Graduate College of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, the Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Wen-Qiang Yu, Jian-Wei Su, Institute of Digestive Disease, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2012GXNSFAA053172; the Key Project of Foundation of Education Department of Guangxi, No. 201202ZD078; the Scientific Research Foundation of Health Department of Guangxi, No. Z2010082

Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Institute of Digestive Disease, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1019846481@qq.com

Received: 2013-07-25 Revised: 2013-08-03

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To examine the *in vitro* bacteriostatic effect of berberine, emodin, schisandra, and baicalin on multiple drug resistant (MDR) strains of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to provide an experimental basis for clinical killing of these MDR strains.

METHODS: After culturing and isolating forty-six *H. pylori* strains, the minimum inhibitory concentrations (MICs) of amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin, tetracycline and metronidazole for the isolated strains were determined by agar dilution method to screen MDR strains. The MICs of berberine, emodin, schisandra, and baicalin for MDR strains were then determined.

RESULTS: Six MDR strains were identified. The MICs of berberine, emodin, schisandra, and baicalin for different MDR strains were not identical, and their ranges were: berberine 12.5 mg/mL, emodin 50-200 mg/mL, baicalin 25-200 mg/mL, and schisandra 50-100 mg/mL.

CONCLUSION: Each of berberine, emodin, schisandra, and baicalin has an appreciated inhibitory effect on MDR strains *in vitro*, and the effect of berberine is more significant.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Multidrug resistance; Traditional Chinese medicine; Bacteriostasis

Wu MH, Huang YQ, Huang ZS, Zhou XH, Yu WQ, Su JW. *In vitro* bacteriostatic effect of berberine, emodin, schisandra, and baicalin on multidrug resistant strains of *Helicobacter pylori*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3247-3251 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3247>

摘要

目的: 研究黄连素、大黄素、五味子、黄芩

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率高, 且已出现多重耐药株, 抗生素耐药性及不良反应多是目前西药治疗 *H. pylori* 遇到的主要问题, 而中药不良反应少, 药源丰富, 在治疗 *H. pylori* 感染中有独特的优越性, 因此寻找安全有效、不良反应少的中医药治疗多重耐药 *H. pylori* 感染是当前十分重要的研究课题。

■同行评议者

袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

■ 研发前沿

目前研究发现临床分离的*H. pylori*抗生素耐药率较高, 中药成分对根除*H. pylori*感染有一定作用, 但中药成分对多重耐药*H. pylori*株有无抑制作用仍不明确。

昔4种中药成分对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)多重耐药(multiple drug resistance, MDR)株的体外抑菌作用, 为临床上根除MDR株提供实验和理论依据。

方法: 临床分离培养46例*H. pylori*, 琼脂二倍稀释法测定阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、四环素、甲硝唑5种抗生素对临床分离株的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC), 筛选出MDR株; 试管二倍稀释法检测4种中药成分黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷对MDR株的MIC, 比较分析不同中药对*H. pylori*多重耐药性的影响。

结果: 共筛选出6株MDR株, 4种中药成分对不同的菌株的MIC值不完全相同, 其范围分别为: 黄连素12.5 mg/mL, 大黄素MIC 50-200 mg/mL, 黄芩苷25-200 mg/mL, 五味子50-100 mg/mL。

结论: 4种中药成分黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷对体外MDR株均有一定的抑菌作用, 其中黄连素效果更显著。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 多重耐药; 中药; 抑菌

核心提示: 本实验研究了常见的黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷4种中药成分对多重耐药幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的体外抑制杀灭作用, 为探寻抗多重耐药*H. pylori*的中药制剂提供实验依据。

吴明慧, 黄衍强, 黄赞松, 周喜汉, 喻文强, 苏建伟. 黄连素、大黄素、五味子及黄芩苷对幽门螺杆菌多重耐药株的体外抑菌作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3247-3251 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3247>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)为定植于人胃黏膜的一种微需氧、螺旋状的革兰阴性杆菌, 已被公认为是慢性胃炎、胃十二指肠溃疡的重要病因, 并与胃癌、胃黏膜相关性淋巴样组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤的发生密切相关^[1,2]。*H. pylori*感染率高, 并已出现了同时对阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑3种或以上抗生素耐药的多重耐药(multiple drug resistant, MDR)株, 2009年Wuep-

penhorst等^[3]研究显示, 临床分离的*H. pylori*中, 15%存在3种或3种以上的抗生素多重耐药; 2010年, 黄宏思等^[4]报道同时对甲硝唑、克拉霉素和阿莫西林3种抗生素耐药率为3.74%, 导致*H. pylori*根除率下降。抗生素耐药性及不良反应多是目前西药治疗*H. pylori*遇到的主要问题, 且*H. pylori*的耐药机制仍未阐明, 因此寻找安全有效, 不良反应少且无耐药性的药物治疗*H. pylori*感染, 是当前十分重要的研究课题。中医药不良反应少, 药源丰富, 使用方便, 在治疗*H. pylori*感染中显示出独特的优越性, 具有广阔的运用前景。本实验研究了常见的黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷4种中药成分对多重耐药*H. pylori*的体外抑制杀灭作用, 为探寻抗多重耐药*H. pylori*的中药制剂提供实验依据。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 用于测定最低抑菌浓度的*H. pylori*菌株胃黏膜活检标本选取于54例确诊为消化性溃疡或慢性活动性胃炎患者(右江民族医学院附属医院消化内科胃镜室, 2011-10/2012-08), 每例取一块标本, 研磨后接种于含5%新鲜兔血的哥伦比亚血琼脂培养基, 37 °C微需氧(850 mL/L N₂、100 mL/L CO₂、50 mL/L O₂)相对湿度>98%的条件下培养3-5 d, 经生化反应(尿素酶、触酶、氧化酶)及HE染色、形态学鉴定, 确认是*H. pylori*, 共获得临床分离株46例。本试验所使用的抗生素原药均由药厂提供: 阿莫西林批号110807, 四川制药制剂有限公司; 克拉霉素批号111202, 哈药集团制药六厂; 左氧氟沙星批号120120, 浙江医药股份有限公司新昌制药厂; 四环素批号20110902, 广东台城制药股份有限公司; 甲硝唑批号10091544, 浙江济民制药有限公司; 98%大黄素(批号120908)、97%黄连素(批号120810)、98%五味子(批号120908)、90%黄芩苷(批号120908)购自陕西昂盛生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 MDR株的筛选: 琼脂二倍稀释法测定5种抗生素对46例*H. pylori*的MIC, 参照美国临床实验室标准委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS)操作步骤及标准^[5,6]。刮取培养24-72 h, 处于对数生长期的菌落溶于无菌生理盐水中, 调整浓度, 对比比浊管至0.5麦氏点, 每毫升菌液约含有10⁸的菌落; 移液器吸取2 μL的菌液接种于分别含阿莫西林、

表 1 MDR株对5种抗生素的耐药性

菌株	左氧氟沙星	阿莫西林	克拉霉素	四环素	甲硝唑
6	S	R	R	R	R
28	R	R	R	R	R
38	R	R	R	R	R
40	R	R	R	R	R
41	R	R	R	R	R
42	R	R	I	R	R

R: 耐药, S: 敏感; I: 中介; 左氧氟沙星MIC \leq 2 μ g/mL, 克拉霉素MIC 0.5 μ g/mL.

表 2 MDR株4种中药成分MIC测定结果 (mg/mL)

菌株	黄连素	黄芩苷	大黄素	五味子
6	12.5	25	200	100
28	12.5	50	200	50
38	12.5	50	50	100
40	12.5	100	100	100
41	12.5	100	100	100
42	12.5	25	100	50

■ 相关报道

目前有报道黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷等中药成分对*H. pylori*有杀灭作用, 为中医药参与*H. pylori*治疗提供实验依据, 且为解决*H. pylori*多重耐药性问题提供新的思路。

克拉霉素、左氧氟沙星、四环素、甲硝唑的不同浓度的哥伦比亚琼脂表面, 微需氧环境中 37 $^{\circ}$ C 培养 72 h 后观察结果, 能在含阿莫西林 \geq 4 μ g/mL、左氧氟沙星 \geq 8 μ g/mL、克拉霉素 \geq 1 μ g/mL、甲硝唑 \geq 8 μ g/mL、四环素 \geq 4 μ g/mL 中的3种或3种以上抗生素的培养基上生长的菌株, 确定为MDR株。

1.2.2 试管二倍稀释法检测四种中药对MDR株的MIC: 参照文献[7]: 取无菌试管12支, 每支试管中加入脑心浸液液体培养基2 mL, 第一支试管加入中药供试液2 mL(预先用0.2 μ m滤菌器滤过), 摇匀, 第1管内中药浓度为200 mg/mL, 倍比稀释至第10管。各管内分别加入上述制备的*H. pylori*菌液0.1 mL(浓度为 10^7 - 10^8 CFU/mL), 混匀后置微需氧发生袋中。第11管不加药液只加菌液, 作为阴性对照, 第12管不加菌液不加药液作为阳性对照。混匀后置微需氧发生袋中, 连同产气袋一起放置于适当大小的烧杯中, 保持试管直立状态, 37 $^{\circ}$ C, 100 r/min的速度震荡培养72 h 观察结果。每种中药药敏试验重复3次, 取均值。将上述的各管培养物取出0.5 mL溶液进行生化涂片染色鉴定, 并传至新的非选择性哥伦比亚培养基, 培养3 d无细菌生长者判定为有抑菌作用, 能够抑制*H. pylori*生长的最小浓度为该供试药物的MIC值。

2 结果

2.1 MDR株筛选结果 共筛选出6株MDR株, 其编号及耐药性如表1, 由表1可以看出, 4株MDR株耐药性相似, 均表现为对阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、四环素、甲硝唑耐药; 一株表现为对左氧氟沙星敏感, 对阿莫西林、克拉霉素、四环素、甲硝唑耐药; 一株表现为对阿莫西林、左氧氟沙星、四环素、甲硝唑耐药。

2.2 4种中药成分对MDR株的MIC 由表2可以看出, 黄连素对幽门螺杆菌多重耐药株的MIC值最小且结果一致, 为12.5 mg/mL, 抑菌作用强, 而黄芩苷、大黄素、五味子对不同菌株的MIC值不完全相同。

3 讨论

中药药理学研究证实, 许多中药具有较强的抑制或杀灭*H. pylori*作用, 以清热解毒类为多, 被称为植物性抗生素^[8]。近年国内外研究显示, 众多的中草药, 如黄连、黄芩、穿心莲、大黄、吴茱萸、板蓝根、乌梅等在体外培养条件下, 对*H. pylori*具有一定的抑制和杀灭作用, 还可抑制对抗生素耐药的*H. pylori*生长或减少耐药菌株的产生^[9-12], 而且通过调整全身和胃黏膜局部的屏障功能来有效改善各种*H. pylori*相关胃肠病的临床症状, 调节和提高机体免疫功能, 最终

■创新盘点

目前报道中药对 *H. pylori* 体外抗菌作用的研究有不少, 但关于中药成分对 *H. pylori* 多重耐药株的体外抑菌作用研究少见。

达到清除 *H. pylori* 感染的治疗效果^[13]。

研究表明, 黄芩苷是黄芩的主要有效成分, 具有广谱抗菌作用, 其抑菌机制包括破坏菌体细胞生物膜, 抑制细菌DNA、RNA、蛋白质的生物合成与降解内毒素等三方面^[14]。黄连素又名盐酸小檗碱, 是黄连主要成分, 其杀菌机制可能是抑制 *H. pylori* 的生长与呼吸, 抑制葡萄糖及糖代谢中间产物的氧化过程, 特别是脱氧反应, 从而杀灭细菌^[12,15]。大黄主要含蒽醌类化合物, 近年来发现的蒽醌类化合物主要包括大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素等4种。其中, 大黄素具有泻下、抗菌、抗肿瘤及止血等效用, 其抗菌作用可能与其抑制细菌核酸的生物合成和呼吸过程有关, 其能引起 *H. pylori* DNA 的损伤, 产生更小的DNA片段^[16,17]; 但也有研究发现大黄素对 *H. pylori* 的抑制作用是通过芳香胺-N-乙酰转移酶的抑制作用实现的^[18]。目前暂未见有中药抑制 *H. pylori* 多重耐药株的相关研究报导。

从本实验可以看出, 黄连素、大黄素、五味子、黄芩苷对多重耐药 *H. pylori* 都有一定的抑制杀灭作用, 尤以黄连素效果明显, 这与池志芳^[19]、姜成等^[20] 研究结果一致, 但6个MDR株只有黄连素MIC稳定, 为12.5 mg/mL, 余3种中药成分其MIC值不完全一致, 分析可能原因为: (1)不同MDR株耐药性有一定的区别, 导致MIC不同; (2)中药抑菌效果不一致, 黄连素效果明显, 作用较稳定, 而其他3种中药成分效果不明显, 作用不稳定, 因菌株耐药性不同导致MIC不同。由于中药抑制 *H. pylori* 的药敏试验目前国内外还没有统一的标准, 现多采用K-B纸片扩散法和液体倍比稀释法。王绪霖等^[21] 观察到黄连、大黄、黄芩的抑菌环分别为25、24及25 mm, 姜成等^[20] 用打孔法测定黄连抑菌圈直径为33 mm, 大黄、黄芩的抑菌环直径均为22 mm; 琼脂稀释法测定黄连对幽门螺杆菌的MIC为12.5-25 mg/mL, 黄芩的MIC为25 mg/mL, 大黄MIC为50 mg/mL, 黄连的抑菌作用最强, 支持我们的研究结论。吴静等^[22] 用试管二倍稀释法测定黄连素对 *H. pylori* 的MIC 0.025 g/mL, 与本实验结果基本一致; 同时他们还测定黄芩苷对 *H. pylori* 的MIC₅₀ 值为1.04 mg/mL, MIC₉₀ 值为1.30 mg/mL^[7], 这与本实验结果不一致, 考虑可能为本实验均为多重耐药菌株, 且菌株来源不同, 包括地域、民族、性别等差异, 导致测定的最低抑菌浓度更大。

本实验表明黄连素、黄芩苷、大黄素、五

味子均对幽门螺杆菌多重耐药菌株有一定的抗菌活性, 提示今后可以从中药材中开发出新一代抗 *H. pylori* 药物, 为中医药参与 *H. pylori* 治疗提供实验依据, 且为解决日趋严重的 *H. pylori* 多重耐药性问题提供新的思路。

4 参考文献

- 1 周丽雅, 崔荣丽. 幽门螺杆菌与胃癌. 中华消化杂志 2010; 30: 497-499
- 2 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3327-3331
- 3 Wueppenhorst N, Stueger HP, Kist M, Glocker E. Identification and molecular characterization of triple- and quadruple-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 648-653 [PMID: 19190100 DOI: 10.1093/jac/dkp003]
- 4 黄宏思, 黄衍强, 黄赞松, 周喜汉, 岑朝, 俞文强. 胃溃疡及胃炎患者幽门螺杆菌耐药性分析. 中国公共卫生 2010; 26: 59-60
- 5 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009
- 6 Falsafi T, Ehsani A, Niknam V. The role of active efflux in antibiotic - resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27: 335-340 [PMID: 19736403 DOI: 10.4103/0255-0857.55452]
- 7 吴静, 胡东, 王克霞. 黄芩和黄芩苷对幽门螺杆菌的体外抗菌活性研究. 中药材 2008; 31: 707-710
- 8 刘红, 余琳, 文永兰. 中药漱口剂对口腔幽门螺杆菌的抑制作用. 医学信息 2011; 24: 2594-2595
- 9 Lin J, Huang WW. A systematic review of treating *Helicobacter pylori* infection with Traditional Chinese Medicine. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4715-4719 [PMID: 19787835 DOI: 10.3748/wjg.15.4715]
- 10 Ma F, Chen Y, Li J, Qing HP, Wang JD, Zhang YL, Long BG, Bai Y. Screening test for anti-*Helicobacter pylori* activity of traditional Chinese herbal medicines. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5629-5634 [PMID: 21105198 DOI: 10.3748/wjg.v16.i44.5629]
- 11 王蔚虹, 胡伏莲. 温胃舒或养胃舒治疗幽门螺杆菌相关性慢性胃炎和消化性溃疡的全国多中心临床研究. 中华医学杂志 2010; 90: 75-78
- 12 Chang CH, Huang WY, Lai CH, Hsu YM, Yao YH, Chen TY, Wu JY, Peng SF, Lin YH. Development of novel nanoparticles shelled with heparin for berberine delivery to treat *Helicobacter pylori*. *Acta Biomater* 2011; 7: 593-603 [PMID: 20813208 DOI: 10.1016/j.actbio.2010.08.028]
- 13 谢国艳, 胡嘉波. 幽门螺杆菌感染的中西医治疗研究进展. 中国全科医学 2011; 6: 004
- 14 吴兆斌. 黄芩苷清热功效的药理作用研究进展. 按摩与康复医学(下旬刊) 2011; 24: 438, 440
- 15 王建平, 彭孝伟. 单味中药治疗幽门螺杆菌的动物研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 345-347
- 16 彭如洁, 彭孝伟. 维生素C, 白藜芦醇和大黄素对幽门螺杆菌体外抗菌作用的研究. 中国中医药咨讯 2011; 3: 51-52
- 17 Hsu S-C, Chung J-G. Anticancer potential of emodin. *BioMedicine* 2012; 2: 108-116 [DOI: 10.1016/j.biomed.2012.03.003]
- 18 黄晓敏, 黄煌, 欧录明, 李洁. 大黄抗无芽胞厌氧菌的

- 体外实验研究. 中国中医药信息杂志 2001; 8: 41-42
- 19 池志芳, 耿巧英, 席菊兰. 三种常见中药对山西地区幽门螺杆菌的药物敏感性实验. 世界中西医结合杂志 2012; 7: 760-761
- 20 姜成, 鄢春锦, 刘蔚雯, 张学敏. 15味中药抑制幽门螺杆菌的体外实验. 福建中医学院学报 2003; 13: 30-32
- 21 王绪霖, 陈桂芳. 抑制幽门螺旋菌中药的初步筛选. 中国中西医结合杂志 1994; 14: 534-536
- 22 吴静, 王克霞, 胡联华. 黄连对幽门螺杆菌的体外抗菌活性研究. 时珍国医国药 2006; 17: 2486-2487

■同行评价

本文首次对从中药中筛选抗多重耐药 *H. pylori* 有效药物进行了尝试, 具有较好的科学价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

血浆型谷胱甘肽过氧化物酶在食管鳞癌中的表达及临床意义

沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 耿长新

■背景资料

食管鳞癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁着人民的健康。食管鳞癌的发生发展与多种基因密切相关。相关研究表明谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 3, GPX3)在多种恶性肿瘤病变中表达下降, 本研究旨在揭示GPX3在食管鳞癌及其癌前病变(上皮内瘤变)中的表达水平及其临床意义。

沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 耿长新, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东院消化科 山东省青岛市 266071

沈磊, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础及临床研究。

国家自然科学基金青年科学基金资助项目, No. 81101813

作者贡献分布: 本课题由贺远龙设计; 病例收集由沈磊、张巍巍及耿长新完成; 实验操作及结果分析由沈磊完成; 论文写作由沈磊与贺远龙完成。

通讯作者: 耿长新, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东院消化科。changxin_geng@hotmail.com

电话: 0532-88905633

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-09-12

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in esophageal squamous cell carcinoma

Lei Shen, Yuan-Long He, Wei-Wei Zhang, Chang-Xin Geng

Lei Shen, Yuan-Long He, Wei-Wei Zhang, Chang-Xin Geng, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Medical College of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81101813

Correspondence to: Chang-Xin Geng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Medical College of Qingdao University, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. changxin_geng@hotmail.com

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-09-12

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of glutathione peroxidase 3 (GPX3) in esophageal squamous cell carcinoma and to analyze its clinical significance.

METHODS: GPX3 protein expression was detected by immunohistochemistry in 42 cases of esophageal intraepithelial neoplasia, 86 cases of esophageal squamous cell carcinoma and 37 cases of normal esophageal mucosa tissue.

RESULTS: The expression of GPX3 in normal esophageal mucosa was significantly higher

than that in esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal squamous cell carcinoma (75.7% vs 38.1%, 18.6%, both $P < 0.01$). Moreover, the expression of GPX3 in esophageal intraepithelial neoplasia was significantly higher than that in esophageal squamous cell carcinoma ($P < 0.05$). The expression of GPX3 was significantly higher in esophageal squamous cell carcinoma without lymph node metastasis than in that with lymph node metastasis (30.8% vs 8.5%, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of GPX3 in esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal squamous cell carcinomas is significantly lower than that in normal esophageal mucosa, and the expression of GPX3 is associated with lymph node metastasis. GPX3 may be used as a candidate marker for esophageal squamous cell carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Glutathione peroxidase 3; Esophageal squamous cell carcinoma; Immunohistochemistry

Shen L, He YL, Zhang WW, Geng CX. Clinical significance of expression of glutathione peroxidase 3 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3252-3256 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3252.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3252>

摘要

目的: 探讨血浆型谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 3, GPX3)在食管鳞癌中的表达及其临床意义。

方法: 随机选取正常人食管黏膜标本37例、食管上皮内瘤变标本42例、食管鳞癌标本86例, 采用免疫组织化学方法对GPX3基因所表达的GPX3蛋白进行检测。

结果: GPX3在正常食管黏膜上皮的阳性表达率为75.7%, 显著高于食管上皮内瘤变的

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

38.1%和食管鳞癌的18.6%($P<0.01$), 并且食管上皮内瘤变的GPX3的阳性表达率显著高于食管鳞癌($P<0.05$); GPX3在无淋巴结转移的食管鳞癌的阳性表达率为30.8%, 显著高于有淋巴结转移的食管鳞癌(8.5%), 且具有统计学意义($P<0.01$).

结论: GPX3在食管上皮内瘤变、食管鳞癌中的表达显著低于在正常食管黏膜的表达, 且GPX3的表达与食管鳞癌淋巴结转移相关; GPX3可能在食管鳞癌的发生发展中起重要作用, 是食管鳞癌潜在的肿瘤标志物之一.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 血浆型谷胱甘肽过氧化物酶; 食管鳞癌; 免疫组织化学

核心提示: 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 3, GPX3)在食管鳞癌及其癌前病变(上皮内瘤变)中存在低表达, 且GPX3的低表达与食管鳞癌的转移有明显相关性. 食管鳞癌是我国高发恶性肿瘤之一, GPX3的相关研究可为食管鳞癌的诊疗及预后判断提供新的思路.

沈磊, 贺远龙, 张巍巍, 耿长新. 血浆型谷胱甘肽过氧化物酶在食管鳞癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3252-3256 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3252.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3252>

0 引言

食管癌是一种常见的消化系恶性肿瘤. 据相关文献报道, 2008年全球估计有48.23万例新发食管癌患者, 约40.7万患者死于食管癌^[1], 其中食管鳞癌约占食管癌发病总数的90%. 食管癌的发生发展与多种基因密切相关, 近年来血浆型谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 3, GPX3)在食管癌中的表达越来越受到重视. 既往研究报道表明GPX3在食管腺癌及Barrett食管病变中存在低表达^[2,3], 但目前尚无GPX3在食管鳞癌及其癌前病变(上皮内瘤变)中表达水平的相关报道. 本研究旨在检测GPX3在食管上皮内瘤变及食管鳞癌中的表达水平, 初步探讨GPX3与食管鳞癌发生发展的关系, 以期为食管鳞癌的防治提供新思路.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取青岛市市立医院及青岛大学医学院附属医院2009-01/2013-03的食管上皮内瘤变组织标本42例, 其中男26例, 女16例, 年

龄35-77岁, 平均年龄 59.05 ± 9.18 岁; 食管鳞癌组织标本86例, 其中男73例, 女13例, 年龄37-77岁, 平均年龄 59.34 ± 9.13 岁, 根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)2009年修订的食管癌TNM分期标准进行分期: I期5例, II期46例, III期35例; 所有标本均经病理学检查确诊, 患者均未经放、化疗及免疫治疗, 标本均为经过患者本人及家属同意后取得.

随机选取37例健康志愿者食管黏膜上皮标本, 其中男23例, 女14例, 年龄28-76岁, 平均年龄 59.49 ± 10.25 岁; 志愿者入选标准: (1)无明显不适症状; (2)胃镜食管黏膜大致正常; (3)食管黏膜组织活检后病理检查结果大致正常; (4)排除有糖尿病、甲亢、近期有重大手术史; (5)未服用激素、精神病药物及其他特殊药物. 标本经患者本人及家属同意后获得. 本研究已通过了青岛市市立医院医学伦理委员会审核. 抗GPX3抗体购自Abcam公司, 货号[23B1](ab27325); 生物素标记的羊抗鼠/兔IgG购自迈新生物技术有限公司; DAB显色系统: 液体DAB酶底物显色试剂盒, 购自福州迈新生物技术有限公司, 产品编号Cat No: DAB-0031/1031, 批号: 1009309902.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 将石蜡标本切片($4 \mu\text{m}$), 烤片1 h后依次经脱蜡、水化处理, 应用EDTA抗原修复液高压修复5 min, 3% H_2O_2 封闭15 min, 滴加正常非免疫动物血清, 室温10 min, 除去血清, 滴加一抗(1:400), 4℃冰箱过夜, 滴加生物素标记的羊抗鼠/兔IgG 10 min, DAB显色3 min, 苏木精复染20 s, 脱水、透明、封片、晾干, 于显微镜下观察.

1.2.2 结果判断: 以现有阳性图片为阳性对照, 以实验中PBS代替一抗实验结果为阴性对照, (1)按细胞浆和/或细胞核显示程度评分: 不显色, 0分; 淡黄色颗粒, 1分; 黄色颗粒, 2分; 棕黄色颗粒, 3分; (2)按细胞显色率评分: 随机选取10个高倍视野, 每个视野计数100个细胞, 计算细胞显色率, 细胞显色率为0%-25%则评定为1分, 细胞显色率为26%-50%评定为2分, 细胞显色率为51%-75%评定为3分, 细胞显色率为76%-100%评定为4分; 最后以两种评分结果相乘所得总分作为判定标准, 计积分 ≤ 4 分为阴性, 积分 > 5 分为阳性^[4].

统计学处理 采用SPSS19.0统计分析软件进行统计学分析, 用所得的数据建立数据库, 应用

■研发前沿

目前, GPX3在恶性肿瘤中的表达已经成为研究热点, 相关报道表明GPX3在恶性肿瘤中表达下降可能与GPX3基因启动子高甲基化有关, 但GPX3在恶性肿瘤发生发展中所起的作用及GPX3表达下降的具体机制尚不完全明确, 有待于进一步深入研究.

■相关报道

Lee等通过PCR及免疫组织化学等技术研究了GPX3在食管腺癌及Barrett食管中的表达, 发现在Barrett食管相关的食管腺癌中GPX3表达下降, 且表达下降可能与GPX3基因启动子高甲基化相关. 在胃癌、前列腺癌等恶性肿瘤的相关研究均发现GPX3存在低表达, 表明GPX3可能广泛参与了恶性肿瘤的发生发展.

■创新盘点

本研究首次应用免疫组织化学技术对食管鳞癌及其癌前病变(上皮内瘤变)中GPX3的表达进行了检测,探讨了GPX3的表达与食管鳞癌临床病理特征之间的关系。

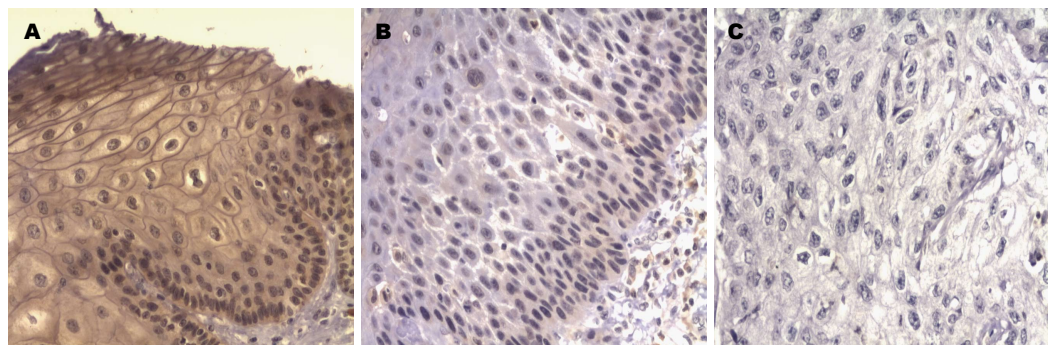


图1 GPX3在不同食管组织中的表达($\times 200$)。A: GPX3在正常食管黏膜上皮中的阳性表达; B: GPX3在食管上皮内瘤变中的阴性表达; C: GPX3在食管鳞癌中的阴性表达。GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶。

表1 GPX3在不同食管组织中的表达

组织类型	n	GPX3的表达(n)		阳性率(%)	χ^2 值	P值
		阴性	阳性			
正常食管黏膜	37	9	28	75.7		
食管上皮内瘤变	42	26	16	38.1	11.259	0.001
低级别	28	17	11	39.3		
高级别	14	9	5	35.7	0.050	0.822
食管鳞癌	86	70	16	18.6	36.674	0.000
I期	5	4	1	20.0		
II期	46	38	8	17.4		
III期	35	28	7	20.0	0.096	0.953

GPX3: 谷胱甘肽过氧化物酶。

χ^2 检验进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GPX3在细胞中的表达 如图1所示, GPX3在正常食管黏膜上皮细胞、食管上皮内瘤变细胞及食管鳞癌细胞中均有不同程度的表达, 表现为细胞的细胞核和/或细胞浆出现黄色或棕黄色颗粒, 其中正常食管黏膜上皮细胞以出现棕黄色和/或黄色颗粒为主, 食管上皮内瘤变细胞及食管鳞癌细胞以出现淡黄色颗粒和/或不显色为主。

2.2 GPX3在不同食管组织中的表达 如表1所示, 在37例正常食管黏膜上皮、42例食管上皮内瘤变及86例食管鳞癌中GPX3的阳性表达率分别为75.7%、38.1%、18.6%; GPX3在正常食管黏膜上皮的阳性表达率显著高于GPX3在食管上皮内瘤变或食管鳞癌的阳性表达率, 且差异有统计学意义(χ^2 值分别为11.259、36.674, P 值分别为0.001、0.000); 食管上皮内瘤变与食管鳞癌的GPX3阳性表达率也存在显著差异($\chi^2 = 5.717$, P

$= 0.017$)。GPX3在食管低级别上皮内瘤变及高级别上皮内瘤变的阳性表达率分别为39.3%、35.7%, 两者之间无显著差异($\chi^2 = 0.050$, $P = 0.822$); GPX3在I期、II期、III期食管鳞癌的阳性表达率分别为20.0%、17.4%、20.0%, 三者间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.096$, $P = 0.953$)。

2.3 GPX3的表达与食管鳞癌临床病理特征的关系 如表2所示, GPX3在无淋巴结转移的食管鳞癌中阳性表达率为30.8%, 显著高于有淋巴结转移的食管鳞癌(8.5%), 且差异具有统计学意义($\chi^2 = 6.973$, $P = 0.008$); 在高、中、低分化食管鳞癌中GPX3的阳性表达率分别为20.0%、17.8%、18.8%, 无显著差异($\chi^2 = 0.053$, $P = 0.974$); GPX3的表达与性别、年龄等因素无显著相关性(χ^2 值分别为1.204、3.119, P 值分别为0.272、0.077)。

3 讨论

GPX3是目前已知的GPX家族8个亚型中唯一的细胞外亚型^[5], 由Takahashi等^[6]于1987年从血浆中纯化获得, 是人体抗过氧化物酶系统中的重要成员, 能够清除人体正常代谢过程中产生的过

表 2 GPX3的表达与食管鳞癌临床病理分级关系

临床病理特征	n	GPX3的表达(n)		阳性率(%)	χ^2 值	P值
		阴性	阳性			
淋巴结转移					6.973	0.008
有	39	27	12	30.8		
无	47	43	4	8.5		
肿瘤分化程度					0.053	0.974
高	25	20	5	20.0		
中	45	37	8	17.8		
低	16	13	3	18.8		
年龄(岁)					3.119	0.077
<60	44	39	5	11.4		
≥60	42	31	11	26.2		
性别					1.204	0.272
男	73	58	15	20.5		
女	13	12	1	7.7		

■应用要点

GPX3在食管鳞癌及其癌前病变(上皮内瘤变)中的异常表达,证实GPX3可作为食管鳞癌的生物标志,为食管鳞癌的诊疗及预后判断提供了新的思路。

氧化氢及脂质过氧化物。近年来研究显示GPX3的表达与多种疾病的发生发展密切相关,在卵巢癌^[7]、子宫内膜癌^[8]、前列腺癌^[9]、胃癌^[10]、结肠癌^[11]等多种恶性肿瘤的相关研究中均发现GPX3存在低表达,在食管腺癌及Barrett食管的相关研究中也发现GPX3表达下降^[2]。本实验通过免疫组织化学方法检测GPX3在食管上皮内瘤变及食管鳞癌中的表达,探讨了其在食管鳞癌发生发展过程中的作用及相关机制。

研究结果显示,GPX3在正常食管黏膜上皮组织中的表达水平显著高于食管上皮内瘤变组织中的表达水平($P<0.01$),提示GPX3的表达在食管上皮内瘤变时即开始出现下降;食管鳞癌的GPX3的表达水平显著低于正常食管黏膜($P<0.01$),与GPX3在食管腺癌中的表达水平相似,食管鳞癌的GPX3的表达水平也显著低于食管上皮内瘤变($P<0.05$),表明GPX3表达在一定程度上随食管病变进展逐渐下降,提示GPX3的表达可能与食管病变进展存在相关性。

GPX3与食管肿瘤的发生发展有着密切的关系,相关研究已经证实氧自由基等活性氧离子可对细胞DNA造成损害^[12],GPX3表达下降可能加重氧自由基对细胞DNA的损害,致使基因断裂、突变,而基因的上述变化正是导致肿瘤发生发展的重要因素^[13],但GPX3在食管上皮内瘤变及食管鳞癌的发生发展过程中的确切作用尚不十分明确。既往研究已经证实GPX3的表达与胃癌细胞淋巴结转移存在相关性^[14]。在本研究中,无淋巴结转移的食管鳞癌病例标本的GPX3阳性表达率显著高于有淋巴结转移的食管鳞癌

病例标本($P<0.01$),提示GPX3的高表达在一定程度上可以抑制食管鳞癌细胞迁移。本研究还显示食管鳞癌肿瘤分化程度与GPX3的表达水平无显著相关($P>0.05$)。

GPX3在食管上皮内瘤变及食管鳞癌中表达下降的确切机制尚未完全明确,多项相关研究中已经发现食管癌GPX3基因启动子存在高甲基化,这可能与GPX3的表达下降密切相关^[2,3,15]。有文献报道5-Aza-Cytidine能够诱导GPX3基因启动子去甲基化^[2,15],使GPX3基因表达上调,STA可增强5-Aza-Cytidine效果^[14],5-Aza-Cytidine等药物可作为食管癌的潜在的化疗药物。本研究还显示在食管上皮内瘤变中GPX3表达下降,但食管上皮内瘤变标本中GPX3的低表达是否也与启动子区的高甲基化有关尚未得到证实,今后还需要做进一步的研究。

总之,GPX3在食管上皮内瘤变及食管鳞癌组织中的表达显著低于正常食管黏膜上皮,并与食管病变程度及是否有淋巴结转移相关,表明GPX3的表达下降是食管鳞癌发生发展的一个重要分子事件,但本研究尚未从基因转录等方面对研究结果加以验证,GPX3在食管鳞癌发生发展中所起作用及其机制尚未明确,有待于进一步深入研究。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.2010]
- Lee OJ, Schneider-Stock R, McChesney PA, Kuester D, Roessner A, Vieth M, Moskaluk CA, El-Rifai W.

■同行评价

本文具有较好的创新性,实验对照设置完整,结果可靠,具有一定的理论和实践意义。

- 3 Peng DF, Razvi M, Chen H, Washington K, Roessner A, Schneider-Stock R, El-Rifai W. DNA hypermethylation regulates the expression of members of the Mu-class glutathione S-transferases and glutathione peroxidases in Barrett's adenocarcinoma. *Gut* 2009; 58: 5-15 [PMID: 18664505 DOI: 10.1136/gut.2007.146290]
- 4 Milde-Langosch K, Bamberger AM, Rieck G, Kelp B, Löning T. Overexpression of the p16 cell cycle inhibitor in breast cancer is associated with a more malignant phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 67: 61-70 [PMID: 11518467]
- 5 Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 3289-3303 [PMID: 23201771 DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020]
- 6 Takahashi K, Avissar N, Whitin J, Cohen H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys* 1987; 256: 677-686 [PMID: 3619451]
- 7 Agnani D, Camacho-Vanegas O, Camacho C, Lele S, Odunsi K, Cohen S, Dottino P, Martignetti JA. Decreased levels of serum glutathione peroxidase 3 are associated with papillary serous ovarian cancer and disease progression. *J Ovarian Res* 2011; 4: 18 [PMID: 22017790 DOI: 10.1186/1757-2215-4-18]
- 8 Falck E, Karlsson S, Carlsson J, Helenius G, Karlsson M, Klinga-Levan K. Loss of glutathione peroxidase 3 expression is correlated with epigenetic mechanisms in endometrial adenocarcinoma. *Cancer Cell Int* 2010; 10: 46 [PMID: 21106063 DOI: 10.1186/1475-2867-10-46]
- 9 Yu YP, Yu G, Tseng G, Cieply K, Nelson J, De-frances M, Zarnegar R, Michalopoulos G, Luo JH. Glutathione peroxidase 3, deleted or methylated in prostate cancer, suppresses prostate cancer growth and metastasis. *Cancer Res* 2007; 67: 8043-8050 [PMID: 17804715]
- 10 Jee CD, Kim MA, Jung EJ, Kim J, Kim WH. Identification of genes epigenetically silenced by CpG methylation in human gastric carcinoma. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1282-1293 [PMID: 19195878 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.12.027]
- 11 Barrett CW, Ning W, Chen X, Smith JJ, Washington MK, Hill KE, Coburn LA, Peek RM, Chaturvedi R, Wilson KT, Burk RF, Williams CS. Tumor suppressor function of the plasma glutathione peroxidase gpx3 in colitis-associated carcinoma. *Cancer Res* 2013; 73: 1245-1255 [PMID: 23221387 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 12 Peng D, Belkhir A, Hu T, Chaturvedi R, Asim M, Wilson KT, Zaika A, El-Rifai W. Glutathione peroxidase 7 protects against oxidative DNA damage in oesophageal cells. *Gut* 2012; 61: 1250-1260 [PMID: 22157330 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301078]
- 13 Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat Res* 2001; 482: 21-26 [PMID: 11535245]
- 14 Peng DF, Hu TL, Schneider BG, Chen Z, Xu ZK, El-Rifai W. Silencing of glutathione peroxidase 3 through DNA hypermethylation is associated with lymph node metastasis in gastric carcinomas. *PLoS One* 2012; 7: e46214 [PMID: 23071548 DOI: 10.1371/journal.pone.0046214]
- 15 He Y, Wang Y, Li P, Zhu S, Wang J, Zhang S. Identification of GPX3 epigenetically silenced by CpG methylation in human esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 681-688 [PMID: 20725785 DOI: 10.1007/s10620-010-1369-0]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

急性食管胃底静脉曲张破裂出血的控制及预后300例

蔡胤浩, 张亚华, 陈万伟, 罗莎莎, 何恩乐, 游明瑶

蔡胤浩, 张亚华, 罗莎莎, 何恩乐, 贵阳医学院附属医院急诊内科 贵州省贵阳市 550004

陈万伟, 贵阳医学院附属医院消化内科 贵州省贵阳市 550004

游明瑶, 贵阳医学院附属医院神经内科 贵州省贵阳市 550004

蔡胤浩, 副主任医师, 主要从事急诊内科的相关工作和研究。

作者贡献分布: 蔡胤浩、张亚华及陈万伟对此文所作贡献均等; 此课题由蔡胤浩、张亚华及游明瑶设计; 研究过程由蔡胤浩、张亚华、陈万伟、罗莎莎、何恩乐及游明瑶操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈万伟提供; 数据分析由蔡胤浩、陈万伟、罗莎莎、何恩乐及游明瑶完成; 本论文写作由蔡胤浩、张亚华及游明瑶完成。

通讯作者: 游明瑶, 副主任医师, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院神经内科. caiyinhao110@163.com
电话: 0851-6855119

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-16

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-10-28

Management and prognosis of acute esophageal variceal bleeding: Analysis of 300 cases

Yin-Hao Cai, Ya-Hua Zhang, Wan-Wei Chen, Sha-Sha Luo, En-Le He, Ming-Yao You

Yin-Hao Cai, Ya-Hua Zhang, Sha-Sha Luo, En-Le He, Department of Emergency Medicine, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Wan-Wei Chen, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Ming-Yao You, Department of Neurology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ming-Yao You, Associate Chief Physician, Department of Neurology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. caiyinhao110@163.com

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-16

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To analyze the treatment, management duration and prognosis of acute esophageal variceal bleeding and to identify predictive factors for treatment failure.

METHODS: Clinical data for 300 patients with acute esophageal variceal bleeding treated at our hospital from January 2008 to January 2013 were analyzed retrospectively. Bleeding control was

analyzed ≤ 2 h, > 2 h but ≤ 6 h, > 6 h but ≤ 5 d, or ≥ 5 d after treatment to find the relationship between bleeding control time and mortality. The effective rate and mortality were compared between patients treated with simple drugs and those treated with drugs combined with endoscopic therapy. Logistic regression analysis was used to identify predictive factors for treatment failure.

RESULTS: The number of patients having ineffective bleeding management was 75, 25 and 27 in the ≤ 2 h, > 2 h but ≤ 6 h, and > 6 h but ≤ 5 d groups, respectively, and the number of dead patients was 1, 3 and 16, respectively. The percentage of patients having ineffective bleeding management was higher in the ≤ 2 h group. The effective rate of drug therapy in management of bleeding was 57.67% (173/300), and the mortality was 9.67% (29/300). The effective rate of tissue adhesive injection or ligation combined with endoscopic therapy in controlling bleeding in patients after ineffective drug therapy was 90.00% (27/30), and the mortality was 0. Logistic regression analysis showed that admission systolic blood pressure ≤ 90 mmHg, increased total bilirubin, high liver function classification, and ascites were predictive factors for treatment failure.

CONCLUSION: Ascites, increased total bilirubin, admission systolic blood pressure ≤ 90 mmHg, and high Child-Pugh classification can predict treatment failure in patients with acute esophageal variceal bleeding. Invalid bleeding control is more common during ≤ 2 h after treatment. Mortality increases with time. If bleeding can not be controlled effectively 2 h after treatment, treatment conversion should be considered. Drugs in combination with endoscopic therapy are associated with higher efficacy and lower mortality in controlling bleeding.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute esophageal variceal bleeding; Gastrointestinal bleeding; Ligation; Tissue adhe-

■背景资料

治疗急性食管胃底静脉曲张破裂出血的关键是快速有效止血、抗休克、防并发症等。控血时限国内外皆以超过6 h为失败, 近来皆将药物及内镜治疗2 h后未能实现控血则表明失败。

■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

■ 研发前沿

急性食管胃底静脉曲张破裂出血具有突发性、出血量大、止血困难、复发率、病死率高等特点,治疗中的紧急处理、转换治疗时段至关重要。

sive; Vasopressin; Octreotide; Endoscopy; Treatment; Prognosis; Predictive factors

Cai YH, Zhang YH, Chen WW, Luo SS, He EL, You MY. Management and prognosis of acute esophageal variceal bleeding: Analysis of 300 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3257-3260 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3257.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3257>

摘要

目的: 探讨急性食管胃底静脉曲张破裂出血(bleeding esophageal varice, BEV)的治疗方法、控制时间及预后之间的关系,找出预测控制出血无效的主要因素。

方法: 选取2008-01/2013-01入我院治疗的300例BEV患者,回顾分析治疗后 ≤ 2 h、 > 2 h但 ≤ 6 h、 > 6 h但 ≤ 5 d、 ≥ 5 d的出血控制状况,剖析控制出血时段与病死率的关系。将单纯药物与药物联合内镜两种治疗措施在控制出血有效率与病死率间的差异进行对比。Logistic回归分析预测治疗无效的因素。

结果: 300例BEV患者内,入院治疗时段出血控制无效者 ≤ 2 h、 > 2 h但 ≤ 6 h、 > 6 h但 ≤ 5 d时段内各自为75、25、27例,病死率依次为1、3、16例。 ≤ 2 h时段出血未获控制病死率较高, ≤ 2 h时段出血控制可降低病死率,支持 > 2 h出血未获控制须立即转换治疗的共识。药物治疗控制出血有效率为57.67%(173/300),病死率为9.67%(29/300)。药物治疗控制出血无效后,组织黏合剂注射或套扎联合内镜治疗的控制出血有效率为90.00%(27/30),死亡率为0。Logistic回归显示,入院时收缩压 ≤ 90 mmHg、总胆红素表达加大、肝功能分级提升、有腹水为预测治疗无效的因素。

结论: 有腹水、总胆红素表达加大、入院时收缩压 ≤ 90 mmHg、肝功能Child-Pugh分级提升等状况也许为预测治疗无效的因素;控制出血无效时段多发于 ≤ 2 h,病死率随时间延长上升; > 2 h出血未获控制须立即转换治疗;药物联合内镜治疗控制出血有效率高,病死率较低。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性食管胃底静脉曲张破裂出血; 胃肠出血; 套扎术; 组织黏合剂; 垂体后叶素; 奥曲肽; 内镜检查; 治疗方法; 预后; 预测因素

核心提示: 此次回顾性剖析300例急性食管胃底静脉曲张破裂出血入院患者的临床资料,对控制

出血时间、治疗方法、预后关系进行分析,找出治疗失败的预测因素。

蔡胤浩, 张亚华, 陈万伟, 罗莎莎, 何恩乐, 游明瑶. 急性食管胃底静脉曲张破裂出血的控制及预后300例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(30): 3257-3260 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3257.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3257>

0 引言

急性食管胃底静脉曲张破裂出血(bleeding esophageal varice, BEV),为肝硬化门脉高压病的危重并发症^[1,2]。因其来势凶、出血大、病情险的特点,病死率 $> 40\%$,若治疗不及时,将造成严重后果^[3,4]。治疗急性BEV的关键是快速有效止血、抗休克、防并发症等。控血时限国内外皆以超过6 h为失败,近来皆将药物及内镜治疗2 h后未能实现控血则表明失败^[5]。此次回顾性剖析300例BEV入院患者的临床资料,对控制出血时间、治疗方法、预后关系进行分析,找出治疗失败的预测因素。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2013-01于我院治疗的300例急性BEV患者资料展开回顾性分析。其中,男188例,女112例,平均年龄 55.86 ± 13.98 岁,首次出血89例,为总比率的29.67%,再次出血111例,为总比率的70.33%。入选标准:依内镜下BEV诊断标准,确诊为急性BEV的患者;依Baveno IV共识意见^[6],于血容量恢复前提下,药物治疗初选生长抑素、垂体后叶素、普奈洛尔或奥曲肽的患者。

1.2 方法

1.2.1 分析方法: 详细记录年龄、性别、病因、病程,出血史、内镜治疗史、本次出血状况,入院时收缩压、心率,肝功能Child-Pugh分级、食管静脉曲张美国分级、腹水状况,血浆总胆红素(total bilirubin, TBIL)、血红蛋白(hemoglobin, HB)、肌酐(creatinine, Cr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血小板(blood platelet, BP)水平,患者输血量,感染状况,合并胃底静脉曲张、肝性脑病、肝癌状况,药物治疗状况。食管静脉曲张程度分级:轻度(A):曲张静脉略隆起自食管黏膜表面,直径 < 5 mm;中度(B):曲张静脉直径 ≥ 5 mm、 $<$ 食管腔直径1/3;重度(C):曲张静脉直径 ≥ 5 mm、 \geq 食管腔直径的1/3^[7]。统计治疗时段: ≤ 2 h; > 2 h但 ≤ 6 h; > 6 h但 ≤ 5 d; ≥ 5 d。

1.2.2 疗效判定标准: 于观察时段内,鼻胃管吸出

表 1 急性BEV患者控制出血失败时限与死因分析 (*n*)

时段	<i>n</i>	控制出血失败	肝性脑病	失血性休克	死亡	其他因素
≤2 h	300	75	1	0	1	0
>2 h、≤6 h	298	25	4	0	3	0
>6 h、≤5 d	293	27	14	2	16	0
≥5 d	287	未统计	6	1	8	1 ¹

¹重症感染死亡. BEV: 食管胃底静脉曲张破裂出血.

表 2 治疗失败影响因素的Logistic回归分析结果

变量	回归系数	标准差	自由度	χ^2 值	<i>P</i> 值	OR	95%CI
入院时收缩压≤90 mmHg	-0.71	0.31	1	5.09	0.02	0.48	0.25-0.90
总胆红素表达加大	0.02	0.01	1	6.20	0.01	1.01	0.99-1.02
肝功能分级提升	0.60	0.20	1	4.53	0.04	1.83	1.21-2.75
有腹水	-0.91	0.28	1	10.43	<0.01	0.39	0.22-0.69

新鲜血液、持续或再次呕吐新鲜血液、失血性休克及/或死亡发生,则为急诊出血控制无效^[8,9].

统计学处理 采取SPSS16.0软件进行数据统计处理. 计量资料以mean±SD表示,两组单因素对比分析采取独立样本*t*检验. χ^2 检验计数资料. 控制出血失败的预测因素,采取多因素Logistic回归模型分析. *P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 急性BEV控制状况 300例急性BEV患者,≤5 d出血未获控制者为127例(42.33%),死亡29例(9.67%),其中,重症感染1例,并发失血性休克3例、肝性脑病25例;控制出血失败率≤2 h最高为75例,占控血失败总数的59.06%,病死率随时间延长而上升. 2 h时段为控制出血失败界限. 分析显示,≤2 h出血未能控制者后续病死率较高[30.67%(23/75) vs 11.54%(6/52), $\chi^2 = 5.18$, *P* = 0.019](表1).

2.2 治疗方法与控制出血关系的分析 300例患者,药物治疗控制出血有效率为57.67%(173/300),病死率为9.67%(29/300). 药物治疗控制出血无效后,组织黏合剂注射或套扎联合内镜治疗的控制出血成功率为90.00%(27/30),病死率为0.

2.3 治疗失败影响因素分析

2.3.1 治疗失败影响因素的单因素分析: 控制出血有效、无效两组入院时收缩压($\chi^2 = 29.98$, *P*<0.01)、TBIL(*t* = 3.89, *P*<0.01)、肝功能分级($\chi^2 = 26.01$, *P*<0.01)、是否呕血($\chi^2 = 5.68$, *P* = 0.02)、

Cr(*t* = 2.06, *P* = 0.04)、有无腹水($\chi^2 = 7.59$, *P* = 0.01)、有无肝性脑病($\chi^2 = 5.19$, *P* = 0.02)状况皆差异显著(*P*<0.05); HB(*t* = 1.99, *P* = 0.05)、年龄(*t* = 0.36, *P* = 0.69)、性别($\chi^2 = 0.23$, *P* = 0.59)、病程(*t* = 1.39, *P* = 0.14)、入院时心率($\chi^2 = 1.06$, *P* = 0.29)、BP(*t* = 0.66, *P* = 0.49)、BUN(*t* = 0.95, *P* = 0.33)、凝血酶原活动度(*t* = 1.36, *P* = 0.16)、肝硬化病因($\chi^2 = 0.72$, *P* = 0.39)、是否首次出血($\chi^2 = 1.53$, *P* = 0.21)、内镜治疗史($\chi^2 = 0.67$, *P* = 0.39)、食管静脉曲张程度分级($\chi^2 = 0.01$, *P* = 1.00)、有无感染($\chi^2 = 0.01$, *P* = 0.90)、有无脾大($\chi^2 = 2.51$, *P* = 0.10)、有无合并胃底静脉曲张($\chi^2 = 0.22$, *P* = 0.62)状况差异皆无统计学意义.

2.3.2 治疗失败影响因素的Logistic回归分析: 入院时收缩压≤90 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)、TBIL表达加大、肝功能分级提升、有腹水为预测治疗失败的因素(表2).

3 讨论

BEV具有突发性、出血量大,止血困难、复发率、病死率高等特点,治疗中的紧急处理、转换治疗时段至关重要^[10]. 国外相关研究表明,经药物、内镜治疗>2 h出血未获控制需采取转换治疗^[11],可临床观察资料的证据尚欠缺. 此次研究,急性BEV患者≤5 d出血未获控制率达42.33%,入院BEV患者病死率为9.67%,死因主要为出血过多循环衰竭所致. 此次研究入院治疗时段出血未获控制者≤2 h、>2 h但≤6 h、>6 h但≤5 d时段内各自为75、25、27例,随出血时

■相关报道

国外相关研究表明,经药物、内镜治疗>2 h出血未获控制需采取转换治疗,可临床观察资料的证据尚欠缺.

同行评价

本研究急性食管胃底静脉曲张破裂出血的治疗方法、控制时间及预后的关系,设计合理,样本比较大,有一定的学术价值。

间延长,死亡加大。出血未获控制与死亡加大呈线性相关。此次研究 ≤ 2 h时段出血未获控制病死率较高, ≤ 2 h时段出血控制可降低病死率,支持 >2 h出血未获控制须立即转换治疗的共识。

诸多研究证实,预测出血未获控制的独立危险因素为内镜下活动性出血与较高的肝静脉压力梯度(hepatic venous pressure gradient, HVPG)^[12]。可目前临床实践中,不能所有急性BEV患者可于 ≤ 2 h获内镜检测及HVPG测定,有待更加便捷、迅速的出血未获控制的预测因素及评估指标^[13]。本研究中,控制出血成功、失败两组入院时的收缩压、TBIL、肝功能分级、Cr、有无肝性脑病、有无呕血及腹水差异显著($P<0.05$),即入院时的生命体征、肝功能状况、出血程度、有无合并肝性脑病为控制出血的主要影响因素。Logistic回归分析表明,入院时收缩压 ≤ 90 mmHg、TBIL水平增高、肝功能分级上升及有腹水为预测出血控制失败的关键要素。TBIL与腹水为肝功能分级关键指征。肝功能分级为BEV预后有价值的判定指标。国外相关研究表明,以血流动收缩压及舒张压力学状态与所需输血量判定指标,BEV再出血组与非再出血组的出血严重程度不具统计学意义,提示血流动力学状态并非预测治疗失败的可靠指标^[3]。此次研究提示,入院时收缩压 ≤ 90 mmHg可作为预测出血控制失败因素。血流动力学状态对出血控制成败有影响,入院时收缩压表达低下可间接体现患者出血量较大,循环血容量缺失。

入院时收缩压 ≤ 90 mmHg、TBIL表达加大、肝功能Child-Pugh分级上升、有腹水也许为预测治疗无效的因素^[14,15]。急性BEV患者控制出血无效时段多于 ≤ 2 h,病死率随时间延长提升。药物联合内镜治疗止血有效率高,病死率低。

参考文献

- 1 杨拯,李晓娇,吕金海,陈建敏,荣成,张晓. 国产醋酸奥曲肽治疗食管胃底静脉曲张破裂出血的系统评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2365-2369
- 2 de Franchis R. Updating consensus in portal hypertension: report of the Baveno III Consensus Workshop on definitions, methodology and therapeutic strategies in portal hypertension. *J Hepatol* 2000; 33: 846-852 [PMID: 11097497 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80320-7]
- 3 Majid S, Azam Z, Shah HA, Salih M, Hamid S, Abid S, Jafri W. Factors determining the clinical outcome

- of acute variceal bleed in cirrhotic patients. *Indian J Gastroenterol* 2009; 28: 93-95 [PMID: 19907958 DOI: 10.1007/s12664-009-0034-z]
- 4 朱长清,董胜翔,茅益民,曾民德,蒋义斌,许建明,田德安,刘吉勇,徐三平,孙樱,罗和生,王炳元. 奥曲肽治疗肝硬化门静脉高压食管胃底静脉曲张急性出血的多中心对照研究. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2570-2573
- 5 de Franchis R. Revising consensus in portal hypertension: report of the Baveno V consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2010; 53: 762-768 [PMID: 20638742 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.004]
- 6 de Franchis R. Evolving consensus in portal hypertension. Report of the Baveno IV consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2005; 43: 167-176 [PMID: 15925423 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.05.009]
- 7 Lay CS, Tsai YT, Lee FY, Lai YL, Yu CJ, Chen CB, Peng CY. Endoscopic variceal ligation versus propranolol in prophylaxis of first variceal bleeding in patients with cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 413-419 [PMID: 16509867 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.04071.x]
- 8 Javvaji S, Kumar A, Madan K, Garg PK, Acharya SK. Management of gastric variceal bleeding. *Trop Gastroenterol* 2007; 28: 51-57 [PMID: 18050839]
- 9 Sarin SK, Wadhawan M, Agarwal SR, Tyagi P, Sharma BC. Endoscopic variceal ligation plus propranolol versus endoscopic variceal ligation alone in primary prophylaxis of variceal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 797-804 [PMID: 15784021 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.40468.x]
- 10 Dhiman RK, Chawla Y, Taneja S, Biswas R, Sharma TR, Dilawari JB. Endoscopic sclerotherapy of gastric variceal bleeding with N-butyl-2-cyanoacrylate. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 222-227 [PMID: 12192197 DOI: 10.1097/00004836-200209000-00005]
- 11 Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey WD. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2086-2102 [PMID: 17727436 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01481.x]
- 12 Abalades JG, Villanueva C, Bañares R, Aracil C, Catalina MV, Garcí A-Pagán JC, Bosch J. Hepatic venous pressure gradient and prognosis in patients with acute variceal bleeding treated with pharmacologic and endoscopic therapy. *J Hepatol* 2008; 48: 229-236 [PMID: 18093686 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.10.008]
- 13 Augustin S, González A, Genescà J. Acute esophageal variceal bleeding: Current strategies and new perspectives. *World J Hepatol* 2010; 2: 261-274 [PMID: 21161008 DOI: 10.4254/wjh.v2.i7.261]
- 14 Burroughs AK, Triantos CK. Predicting failure to control bleeding and mortality in acute variceal bleeding. *J Hepatol* 2008; 48: 185-188 [PMID: 18155797 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.11.006]
- 15 Zoli M, Merkel C, Magalotti D, Gueli C, Grimaldi M, Gatta A, Bernardi M. Natural history of cirrhotic patients with small esophageal varices: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 503-508 [PMID: 10685758 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01775.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



叶酸联合胃复春治疗萎缩性胃炎癌前病变的疗效

曹艳菊, 屈昌民, 吴继华, 梁淑文, 罗治文, 王晓英, 钟长青, 李连勇

曹艳菊, 屈昌民, 梁淑文, 罗治文, 王晓英, 钟长青, 李连勇, 中国人民解放军306医院消化内科 北京市 100101
吴继华, 中国人民解放军306医院病理科 北京市 100101
曹艳菊, 主任医师, 主要从事肠道微生态环境与黏膜屏障的研究。
作者贡献分布: 曹艳菊对此文作主要贡献; 此课题由曹艳菊设计; 研究过程由曹艳菊、吴继华、梁淑文、罗治文、王晓英、钟长青及李连勇操作完成; 所用试剂由曹艳菊与屈昌民提供; 数据分析及论文写作由曹艳菊与屈昌民完成。
通讯作者: 曹艳菊, 主任医师, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 中国人民解放军306医院消化内科。
caoyanju1966@sina.com
电话: 010-66356729
收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-26
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-28

Therapeutic effects of folic acid against precancerous lesions in patients with chronic atrophic gastritis

Yan-Ju Cao, Chang-Min Qu, Ji-Hua Wu, Shu-Wen Liang, Zhi-Wen Luo, Xiao-Ying Wang, Chang-Qing Zhong, Lian-Yong Li

Yan-Ju Cao, Chang-Min Qu, Shu-Wen Liang, Zhi-Wen Luo, Xiao-Ying Wang, Chang-Qing Zhong, Lian-Yong Li, Department of Gastroenterology, the 306th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100101, China
Ji-Hua Wu, Department of Pathology, the 306th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100101, China
Correspondence to: Yan-Ju Cao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 306th Hospital of Chinese PLA, 9 Anxiang North Road, Beijing 100101, China. caoyanju1966@sina.com
Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-26
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To evaluate the therapeutic effect of folic acid against intestinal metaplasia (IM) and atypical hyperplasia (ATP).

METHODS: One hundred and one patients with chronic atrophic gastritis (accompanied with IM and ATP) were randomly divided into either a trial group or a control group. Before treatment, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) carriers received eradication treatment with routine quadruple chemotherapy for ten days. Patients of the trial group received treatment with folic acid and traditional Chinese medicine Weifuchun, while patients of the control group were treated with

Weifuchun only. The treatment duration was 6 mo in both groups. The improvement in clinical symptoms and histological findings was compared between the two groups.

RESULTS: Compared to the control group, the trial group had significantly improved clinical symptoms and histological findings for IM and ATP (84.91% vs 41.67%, 70.27% vs 45.45%, 68.75% vs 33.33%; $P < 0.001$, $P < 0.05$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Combination therapy with folic acid and Weifuchun is safer and more effective than Weifuchun alone in the treatment of precancerous gastric lesions IM and ATP.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; Precancerous lesions; Intestinal metaplasia; Dysplasia; Folic acid

Cao YJ, Qu CM, Wu JH, Liang SW, Luo ZW, Wang XY, Zhong CQ, Li LY. Therapeutic effects of folic acid against precancerous lesions in patients with chronic atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3261-3264 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3261.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3261>

摘要

目的: 观察叶酸联合胃复春对萎缩性胃炎伴肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)及异型增生(atypical hyperplasia, ATP)的逆转作用。

方法: 101例慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)患者, 经内镜及病理学检查证实伴有不同程度的IM及ATP, 其中幽门螺杆菌阳性者常规根除治疗, 随机分为两组, 治疗组(叶酸联合胃复春)及对照组(胃复春), 疗程均为6 mo, 观察治疗后患者临床症状及病理学改变。

结果: 治疗组患者临床症状、IM及ATP的总有效率分别为84.91%、70.27%及68.75%; 对照组分别为41.67% ($P < 0.001$)、45.45% ($P < 0.05$)及33.33% ($P < 0.05$), 两组总有效率比

■背景资料

胃黏膜肠上皮化生及异型增生被广泛认为是胃癌的癌前病变, 萎缩性胃炎经过黏膜萎缩、肠上皮化生及异型增生的多阶段、多基因的变异积累过程可发展成胃癌, 及时有效逆转癌前病变是降低胃癌发病率和病死率的重要措施。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■研究前沿

叶酸缺乏可导致多系统受损, 叶酸缺乏与消化系统肿瘤的关系日益受到重视; 叶酸在抑制并逆转胃黏膜肠化生及异型增生癌前病变过程中发挥重要作用。

较差异均有统计学意义。

结论: 叶酸联合胃复春治疗对萎缩性胃炎伴肠上皮化生及异型增生有良好的逆转作用, 同时能很好改善患者临床症状, 应进一步推广应用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 萎缩性胃炎; 癌前病变; 肠上皮化生; 异型增生; 叶酸

核心提示: 胃黏膜肠上皮化生及异型增生被广泛认为是胃癌的癌前病变, 及时有效逆转癌前病变是降低胃癌发病率和病死率的重要措施。本文对胃复春联合叶酸与单药胃复春治疗萎缩性胃炎伴癌前病变进行了全面系统的比较, 证实胃复春联合叶酸方案对患者临床症状改善、胃黏膜肠化生及异型增生逆转的疗效明显好于单药胃复春方案, 同时胃复春、叶酸具备安全、经济、有效、服用方便等优点, 值得临床推广。胃复春与叶酸联合为萎缩性胃炎癌前病变治疗及胃癌预防提供了新的思路和治疗手段。

曹艳菊, 屈昌民, 吴继华, 梁淑文, 罗治文, 王晓英, 钟长青, 李连勇. 叶酸联合胃复春治疗萎缩性胃炎癌前病变的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3261-3264 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3261.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3261>

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是一种常见病、多发病, 在病理上以胃黏膜固有腺体萎缩为主要改变, 萎缩性胃炎经过黏膜萎缩、肠上皮化生及异型增生的多阶段、多基因的变异积累过程可发展成胃癌^[1]。胃黏膜肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)及异型增生(atypical hyperplasia, ATP)被广泛认为是胃癌的癌前病变, 目前尚无理想的治疗药物。近年来一些国内临床报道叶酸可以阻断或逆转胃黏膜萎缩、肠化及异型增生等癌前病变, 对胃癌的发生有干预作用^[2-4]。本研究应用叶酸联合胃复春治疗萎缩性胃炎伴肠上皮化生及/或异型增生, 进行疗效观察, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2009-06/2012-06消化内科门诊因上腹痛、腹胀、反酸、嗝气、恶心、呕吐、食欲减退等症状就诊患者, 经内镜及病理组织学证实的慢性萎缩性胃炎伴不同程度肠上

皮化生及/或异型增生113例, 男68例, 女45例; 年龄28-75岁。IM组织学标准分为轻、中、重三级, ATP分为轻度和重度两级^[5]。所有患者均无其他胃肠道疾病(消化性溃疡、消化系肿瘤)及严重慢性疾病, 所有患者经¹³C呼气试验方法检测幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), 经检测*H. pylori*阳性59例, 均于受试前给予常规三联(奥美拉唑20 mg bid+阿莫西林1000 mg bid或克拉霉素500 mg bid+左氧氟沙星200 mg bid)治疗10 d根除*H. pylori*, 停药4 wk后复查¹³C呼气试验检测*H. pylori*, 有9例*H. pylori*仍阳性者排除, 其余104例患者随机分为联合治疗组(叶酸+胃复春)54例, 对照组(胃复春)50例, 两组患者在性别、年龄、症状、病程、病理严重程度、入组前*H. pylori*感染等资料经统计学分析, 差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 联合治疗组患者口服叶酸(天津力生制药股份有限公司), 每次5 mg, tid; 胃复春(浙江胡庆余堂制药有限公司), 每次4片, tid。对照组口服胃复春, 每次4片, tid。两组疗程均为6 mo。治疗过程中清淡饮食, 忌食辛辣、油腻食物。所有患者在日记卡上记录临床症状, 每月行心电图、血常规、肝肾功能等检查。两组患者于疗程结束后1 wk内复查胃镜及根据前次活检记录同部位黏膜活检。

1.2.2 疗效评定标准: 临床疗效评估: 对反酸、嗝气、腹痛、腹胀、纳差、恶心、呕吐7项消化系统症状严重程度进行评分。0分: 无症状; 1分: 偶有症状或症状较轻; 2分: 经常发生, 部分影响工作及生活, 药物能缓解; 3分: 症状严重, 药物难以缓解, 影响日常工作及生活。根据积分变化进行疗效评级。显效: 临床症状消失或基本消失; 有效: 临床症状明显减轻或有改善, 积分减少50%以上; 无效: 临床症状无改善或加重, 积分减少不足50%。

胃黏膜病理组织学变化: 采用2006年全国慢性胃炎研讨会(上海)制定的《中国慢性胃炎共识意见》分级标准^[6]。观察治疗前后黏膜炎症活动程度, 腺体数目、肠上皮化生及异型增生情况, 将黏膜炎症活动程度、萎缩程度及肠化生程度均分为轻度、中度及重度三级; 异型增生分为轻度和重度两级。病理疗效评估标准^[7]: 显效: 活动性炎症消失或炎症级别改善两个级别; 黏膜萎缩改善两个级别以上, 或改善两个级别同时伴肠化生和异型增生改善一个级别以上;

■相关报道

目前已有关于叶酸缺乏与消化系统肿瘤密切相关、叶酸对肿瘤有干预作用以及叶酸应用于预防肝癌、结肠癌及逆转癌前病变等的报道。

表 1 两组临床症状疗效比较 $n(\%)$

分组	n	显效	有效	无效	总有效率 $n(\%)$
治疗组	53	22	23	8	45(84.91) ^b
对照组	48	8	12	28	20(41.67)

^b $P<0.001$ vs 对照组.表 2 组织病理学疗效比较 $n(\%)$

分组	n	显效	有效	无效	总有效数(率) $n(\%)$
治疗组	53	18	19	16	37(69.81) ^b
CAG+IM	37	11	15	11	26(70.27) ^a
CAG+IM+ATP	16	7	4	5	11(68.75) ^c
对照组	48	8	13	27	21(43.75)
CAG+IM	33	6	9	18	15(45.45)
CAG+IM+ATP	15	2	3	10	5(33.33)

^a $P<0.05$ vs 对照组(CAG+IM); ^b $P<0.01$ vs 对照组; ^c $P<0.05$ vs 对照组(CAG+IM+ATP). CAG: 慢性萎缩性胃炎; IM: 肠上皮化生; ATP: 异型增生.

或黏膜萎缩改善一级同时伴肠化生和异型增生的改善和消失. 有效: 活动性炎症级别改善一级; 黏膜萎缩、伴肠化生和异型增生三者之一有轻度改善; 无效: 病理无改善或加重.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件分析, 两组间有效率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

治疗组1例及对照组2例患者因消化系以外疾病停止服药, 排除研究. 余101例患者治疗期间未见不良反应, 检测血常规、肝肾功能及心电图均未见异常改变.

2.1 两组临床症状疗效比较 治疗组临床症状有效率84.91%明显高于对照组41.67%($P<0.001$)(表1), 差异具有统计学意义.

2.2 两组组织病理学疗效比较 治疗组总治疗有效率、IM及ATP治疗有效率分别为69.81%、70.27%及68.75%, 均明显高于对照组的43.75%($P<0.01$)、45.45%($P<0.05$)及33.33%($P<0.05$)(表2), 两组比较差异均具有统计学意义.

3 讨论

叶酸是B族维生素, 人体自身不能合成, 必须从膳食中摄取, 若摄入不足, 易造成叶酸缺乏. 叶酸参与嘌呤及胸腺嘧啶的合成, 是一碳单位的

主要供体, 为染色体的主要构成物质, 也是蛋白质和DNA甲基化修饰所必需的, 而DNA甲基化是基因调控的主要方式. 人类许多肿瘤生成前往往先出现DNA甲基化异常, 某些基因的低甲基化, 导致抑癌基因变异, 癌基因表达增加^[8]. 叶酸缺乏会引起DNA甲基化减低、修复障碍, 染色体断裂、基因突变. 叶酸缺乏可导致多系统受损, 消化系统可发生萎缩性胃炎、结肠炎, 与胃黏膜肠上皮化生及异型增生、结肠腺瘤等癌前病变关系密切, 增加患胃癌、结肠癌的危险性. 研究发现, 胃癌及癌前病变状态往往存在胃黏膜细胞内叶酸水平低下^[9]. 因此, 叶酸缺乏与消化系肿瘤的关系日益受到重视, 目前, 叶酸已被应用于预防结肠癌及逆转癌前病变^[10].

目前国内治疗萎缩性胃炎多以中医药为主, 胃复春具有健脾益气、活血化瘀的功效, 通过改善胃黏膜的微循环、促进炎症吸收和萎缩腺体复生; 而西药用于治疗萎缩性胃炎的研究较少. 叶酸干预萎缩性胃炎的十年临床研究证实^[11,12], 叶酸可改善萎缩性胃炎患者胃黏膜组织学状态, 使胃黏膜癌变发生率明显低于对照组. 多项研究证实叶酸可以逆转IM及ATP^[13], 从而阻断胃癌发生, 其作用机制可能是叶酸参与维护DNA甲基化状态和抑制癌基因的表达^[4,14], 从而减少异型增生的发生及逆转已出现的异型增生^[15]. 近年来, 我国胃癌发病率和病死率均呈上升趋势, 及时有效逆转胃癌癌前病变是降低

■创新盘点

本文研究发现, 胃复春联合叶酸治疗萎缩性胃炎伴肠化生及异型增生, 临床症状改善、胃黏膜肠化生及异型增生好转及逆转疗效明显好于单药胃复春治疗效果, 表明叶酸在改善症状、抑制并逆转胃黏膜肠化生及异型增生过程中发挥了重要作用, 为萎缩性胃炎癌前病变治疗及胃癌预防提供了新的思路和治疗手段.

■应用要点

本文对胃复春联合叶酸与单药胃复春治疗萎缩性胃炎伴癌前病变进行了全面系统的比较, 证实叶酸对患者临床症状改善、胃黏膜肠化生及异型增生逆转具有重要作用, 而且叶酸具备安全、经济、有效、服用方便等优点, 值得临床推广.

■同行评价

本文设计合理、完成例数较多,结果可信、结论客观,研究结果对临床具有较好的指导作用,有一定的创新性。

胃癌发病率和病死率的重要措施^[16]。

本研究通过西药叶酸联合中药胃复春不同作用机制的联合治疗,探讨叶酸对萎缩性胃炎伴肠上皮化生及异型增生的逆转作用。本研究重点观察叶酸对萎缩性胃炎伴肠上皮化生及/或异型增生的逆转作用,研究结果显示,胃复春联合叶酸治疗组在临床症状、IM及ATP的总有效率分别为84.91%、70.27%及68.75%;而胃复春单药治疗组的总有效率分别为43.75%($P<0.01$)、45.45%($P<0.05$)及33.33%($P<0.05$),结果表明,胃复春联合叶酸治疗对临床症状改善、胃黏膜肠化生及异型增生的逆转疗效明显好于单药胃复春的治疗效果,表明叶酸在改善症状、抑制并逆转胃黏膜肠化生及异型增生过程中发挥了重要作用,而且叶酸服用过程中未出现任何不良反应,具备安全、经济、有效、服用方便等优点,值得临床推广。

4 参考文献

- 1 朱舜时, 夏书军, 陈晓宇, 汪敏, 彭延申, 施尧. 叶酸治疗萎缩性胃炎并干预胃癌生成的分子生物学机制. 胃肠病学 2002; 7: 86-89
- 2 Xiao SD, Meng XJ, Shi Y, Hu YB, Zhu SS, Wang CW. Interventional study of high dose folic acid in gastric carcinogenesis in beagles. *Gut* 2002; 50: 61-64 [PMID: 11772968 DOI: 10.1136/gut.50.1.61]
- 3 朱舜时, Joel Mason, 施尧, 胡运彪, 李蓉蓉, 汪敏, 周怡和, 金冠球, 谢宇野, 郭桂泉, 夏德凰, 钱珍华, 宋海莲, 屠伯强, 张丽冬, Roberit Russell, 萧树东. 叶酸对胃癌和其他胃肠道癌发生的干预作用—临床试验七年随访. 胃肠病学 2002; 7: 76-78
- 4 冯瑞兵. 叶酸对慢性萎缩性胃炎癌前病变的疗效观察. 新医学 2011; 42: 312-314
- 5 姚永莉, 张万岱. 慢性萎缩性胃炎的诊断和治疗. 新医学 2005; 36: 720-721, 744
- 6 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 胃肠病学 2006; 11: 674-684
- 7 张翠萍, 孙学国, 赵青喜, 张琪, 孔心娟. 替普瑞酮治疗慢性萎缩性胃炎100例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1069-1073
- 8 房静远, 陆嵘. 维生素与胃癌的预防. 国际消化病杂志 2006; 26: 291-293
- 9 Farinati F, Cardin R, Russo VM, Busatto G, Franco M, Rugge M. *Helicobacter pylori* CagA status, mucosal oxidative damage and gastritis phenotype: a potential pathway to cancer? *Helicobacter* 2003; 8: 227-234 [PMID: 12752735 DOI: 10.1046/j.1523-5378.2003.00149.x]
- 10 王艳萍, 吐尔逊江·买买提明, 伊力亚尔·夏合丁. 叶酸对消化系统病变的预防性干预. 中国临床康复 2006; 10: 115-117
- 11 Fang JY, Xiao SD. Folic acid, polymorphism of methyl-group metabolism genes, and DNA methylation in relation to GI carcinogenesis. *J Gastroenterol* 2003; 38: 821-829 [PMID: 14564626 DOI: 10.1007/s00535-003-1207-7]
- 12 Zhu S, Mason J, Shi Y, Hu Y, Li R, Wahg M, Zhou Y, Jin G, Xie Y, Wu G, Xia D, Qian Z, Soh H, Zhang L, Russell R, Xiao S. The effect of folic acid on the development of stomach and other gastrointestinal cancers. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 15-19 [PMID: 12667380]
- 13 赵建学, 刘顺英. 叶酸对胃癌癌前状态细胞凋亡和增殖的影响—附38例检测分析. 新医学 2003; 34: 605-606
- 14 陈海金, 王惠吉. 萎缩性胃炎大鼠p16, bcl-2, PCNA的表达及叶酸的预防作用. 中国老年学杂志 2011; 31: 3324-3327
- 15 陈旗, 于利平. 胃复春叶酸治疗萎缩性胃炎78例疗效观察. 第四军医大学学报 2009; 30: 2060
- 16 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. 中华肿瘤杂志 2004; 26: 429

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



经颈静脉肝内门体分流术手术使用全覆膜支架

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石, 贵阳医学院附属医院放射科 贵州省贵阳市 550004

蒋天鹏, 硕士, 副主任医师, 主要从事外周介入的治疗与临床研究。

作者贡献分布: 蒋天鹏与王黎洲对此文所作贡献均等; 此课题由蒋天鹏、王黎洲及周石设计; 研究过程由蒋天鹏、王黎洲、李兴、宋杰及吴晓萍操作完成; 数据分析由蒋天鹏完成; 本论文写作由蒋天鹏与王黎洲完成。

通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院。jttpp@sina.com

电话: 0851-6774195

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-12 在线出版日期: 2013-10-28

Transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation with expanded polytetrafluoroethylene-covered stent

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. jttpp@sina.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-12 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To assess the feasibility of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) creation with expanded polytetrafluoroethylene-covered stent and its influence on patency rate.

METHODS: Clinical data for 114 cirrhotic patients treated by *de novo* TIPS placement between May 2005 and March 2011 were reviewed. All the patients (54 ± 14 years old) were admitted with variceal bleeding ($n = 92$), refractory ascites ($n = 8$), or both ($n = 14$). The stents used were composed of a 60 to 80 mm long nickel-titanium stent (diameter, 7 to 10 mm) and an expanded-polytetrafluoroethylene graft covering with the same length. Portal venous pressure and portosystemic pressure gradient were assessed before

and after stent implantation. Patients underwent Doppler ultrasound on 7 d and at 1, 3, 6, and 12 mo after the procedure and underwent venography whenever necessary.

RESULTS: Fifteen patients underwent an additional bare stent implantation on the portal side of the covered-stent at the same time. Mean portal venous pressure dropped from 34 ± 8 cmH₂O to 24 ± 4 cmH₂O ($P < 0.01$). Mean portosystemic pressure gradient dropped from 27.3 ± 6.5 cmH₂O to 12.1 ± 3.2 cmH₂O ($P < 0.01$). During the follow-up, sixteen stenoses were observed, of whom 12 underwent implantation of the second stent, 2 underwent a second TIPS, and 2 with portal thrombosis died of treatment failure. The cumulative 1- and 2-year patency rates were 86.7% and 75.2%, respectively.

CONCLUSION: Our results clearly show the feasibility of TIPS placement with expanded polytetrafluoroethylene-covered stent, which can significantly improve patency compared to bare stents. The structural weaknesses of expanded polytetrafluoroethylene-covered stent can be compensated by implanting an additional bare stent on the portal side of the shunt.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Portosystemic shunt; Interventional radiography; Portal hypertension; Endovascular stent

Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation with expanded polytetrafluoroethylene-covered stent. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3265-3269
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3265.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3265>

摘要

目的: 采用聚四氟乙烯全覆膜支架行经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)术治疗肝硬化合并消化系出血及腹水, 观察并评估该支架的性能及疗效。

■背景资料

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化门静脉高压所导致食管静脉曲张破裂出血的有力手段, 随着覆膜支架在TIPS术中的应用, 中、远期通畅率也得到显著提高。有研究结果显示使用覆膜支架早期对出血患者行TIPS术相对于内科治疗和内镜治疗可以有效提高患者生存率。

■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

■研究前沿

理论上良好的分流道要求支架长度完全与肝实质分流道与肝静脉端长度总和相等,而在实际中这几乎不可能,为了兼顾两者,对发生“盖帽”病例的支架门静脉端再植入一枚相同直径的裸支架,并使其伸出覆膜支架门静脉端约2 cm,即采用所谓“双支架”处理,可以还原专用支架的结构,有效避免“盖帽”发生,也证明了TIPS专用支架结构设计的合理性。

方法: 114例肝硬化门静脉高压患者接受全覆膜支架TIPS术(男77例,女37例),平均年龄54岁 \pm 14岁。其中单纯食道静脉曲张破裂出血92例,单纯难治性腹水8例,食道静脉曲张破裂出血合并难治性腹水14例。所有患者均首次接受TIPS手术。随访用彩色多普勒超声观察分流道通畅情况,并在出现分流道功能障碍时加以再次介入干预。

结果: 15例病例术中在覆膜支架植入后,于门静脉端再植入一枚裸支架。术后门静脉压力平均从34 cmH₂O \pm 8 cmH₂O降低到24 cmH₂O \pm 4 cmH₂O。随访期间共观察到19例消化系出血复发,其中16例接受再次介入干预。分流道1年通畅率为86.7%,2年通畅率为75.2%。

结论: 聚四氟乙烯全覆膜支架能显著提高分流道通畅时间。在TIPS术中表现出一些结构上的缺陷,但可以通过在门静脉端植入裸支架加以弥补。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 门体分流术; 介入放射学; 门静脉高压症; 血管内支架

核心提示: 本组病例分流道通畅率与国外文献报道的经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)专用支架的通畅率相当,高于以往文献报道的裸支架通畅率。肝性脑病的发生仍然是TIPS术无法回避和解决的问题,在满足有效降低门静脉压力和门体循环压力梯度的前提下,尽量使用小直径的支架理论上可以减少肝性脑病的发生及程度。

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石. 经颈静脉肝内门体分流术手术使用全覆膜支架. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3265-3269 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3265.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3265>

0 引言

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化门静脉高压所导致食道静脉曲张破裂出血的有力手段,随着覆膜支架在TIPS术中的应用,中、远期通畅率也得到显著提高^[1,2]。有研究结果显示使用覆膜支架早期对出血患者行TIPS术相对于内科治疗和内镜治疗可以有效提高患者生存率^[3]。由于TIPS专用支架尚未引进国内,选择使用全覆膜支架行TIPS术的病例逐渐增多,现就其疗效和出现的问题报道如下。

■相关报道

Saxon等认为直径8 mm的支架也许是防止肝性脑病与适当分流的契合点,但选择直径7 mm或更小的支架事后可以大幅度降低肝性脑病发生率同时能保持稳定的分流量等问题还有待临床观察和研究。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-04/2011-03采用聚四氟乙烯全覆膜镍钛合金自膨式支架进行TIPS手术的患者资料。共收集患者资料114例,其中男77例,女37例,平均年龄54岁 \pm 14岁。病例均为肝硬化失代偿期门静脉高压患者。其中单纯食道静脉曲张破裂出血92例,单纯难治性腹水8例,食道静脉曲张破裂出血合并难治性腹水14例。肝功能分级,Child-Pugh A级29例, B级51例, C级34例。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 术前了解患者心肺功能、肝功能、凝血功能,排除手术禁忌证。尽量纠正低蛋白血症及凝血功能障碍。尽可能完善腹部增强CT等影像检查以便观察门静脉及其分支走行情况及其与肝静脉位置关系,同时排除门静脉、腔静脉血栓形成及门静脉海绵样变性。未及行增强CT的病例可于TIPS术前行间接门静脉造影。

1.2.2 手术操作方法: 采用右侧颈内静脉入路,经肝右静脉或肝中静脉穿刺门静脉右支或左支,并测量门体循环压力梯度,球囊导管扩张门体分流道,直至门体循环压力梯度降低至16 cmH₂O以下,植入相应直径覆膜支架,分流道肝实质部分及肝静脉端要求完全被支架覆膜部分覆盖,术中同时栓塞曲张的胃冠状静脉。植入支架直径7-10 mm,长度60-80 mm,15例患者在植入全覆膜支架的同时,为避免支架门静脉端长度不足而被门静脉壁覆盖,于分流道门静脉端植入相同直径裸支架起支撑作用。

1.2.3 术后处理: 术后暂禁高蛋白饮食并保持大便通畅。根据患者凝血功能可予低分子肝素皮下注射,同时每日口服氯吡格雷75 mg抗血小板治疗,用药期间注意监测血小板及凝血功能。

1.2.4 随访情况: 随访期间观察再出血情况、腹水消退情况及并发症。在术后7 d、1、3、6 mo、1年行分流道多普勒超声检查,之后每隔6 mo接受肝脏多普勒超声检查了解分流道情况,随访截止至2011-03-30。随访期间患者再发消化系出血或是超声检查发现分流道功能异常时,即行直接门静脉造影并对分流道功能障碍加以介入干预,采用球囊扩张分流道及裸支架植入支撑狭窄分流道,或者再行TIPS术。患者失访、死亡及出现分流道功能障碍均归为随访终止。

统计学处理 分流道通畅率用Kaplan-Meier生存曲线评估。统计资料采用mean \pm SD表示,门静脉压力、平均压力梯度用配对t检验评估,P<0.05为差异有统计学意义。



图 1 通过分流道球囊扩张并在门静脉端在植入一枚裸支架。A: 覆膜支架覆盖门静脉右分支; B: 同一病例, 术后11 mo造影见原门静脉右分支消失(箭头), 门静脉主干内血栓形成(箭头), 分流道虽然通畅, 但由于门静脉血栓形成导致肝前性门静脉高压。

■创新盘点
总结、提炼此文章与其他相关、或类似文章、报道的不同点以及创新之处, 以方便读者比较, 并有重点的阅读文章。

图 2 通过再门静脉端再植入裸支架。A: 支架门静脉端距离门静脉壁过近而导致分流入口几乎被覆盖而形成所谓“盖帽”现象(图中箭头所示), 导致分流不佳, 分流道入口血流动力紊乱。B: 同一病例, 采用双支架处理, 在覆膜支架分流道门静脉端再植入一枚裸支架(箭头)并长出覆膜支架约2 cm, 对分流道门静脉端进行支撑, 避免分流道入口被覆盖。

2 结果

2.1 临床疗效 114例患者所使用的覆膜支架规格分别为10 mm(14例)、9 mm(1例)、8 mm(52例)和7 mm(47例)。其中15例在覆膜支架植入后同时于其门静脉端植入相同直径裸支架。门静脉压力由术前平均 $34 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 8 \text{ cmH}_2\text{O}$ 降低到术后 $24 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 4 \text{ cmH}_2\text{O}$ ($P < 0.01$), 门体循环压力梯度从术前平均 $27.3 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 6.5 \text{ cmH}_2\text{O}$ 降低到平均 $12.1 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 3.2 \text{ cmH}_2\text{O}$ ($P < 0.01$)。

术中同时对曲张胃冠状静脉进行栓塞, 40例急诊出血接受手术患者有37例术后24 h内出血停止。术后7 d内死亡3例, 1例酒精性肝硬化患者术后24 h内仍不断大量出血, 并于术后48 h死于弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)和多器官功能衰竭; 1例出血停止的患者在术后第3天死于多器官功能衰竭; 另一例患者术中发现脾静脉闭塞而无法行冠状静脉栓塞, 术后24 h内仍出血不止, 72 h内死于DIC及多器官功能衰竭。

8例单纯顽固性腹水患者术后2 wk腹水明显消退, 14例消化系出血合并大量腹水的患者除2例于术后1 wk内死亡外, 其余12例患者中有8例患者在术后2 wk腹水明显消退, 另4例患者腹水减少。

2.2 并发症 1例单纯顽固性腹水患者在术后3 h出现低血容性休克症状, 腹胀明显, 诊断性腹腔穿刺抽出不凝固血性液体, 于TIPS术后4 h行剖腹

探查手术, 发现肝十二指肠韧带右上方瘀斑, 并可见直径2 mm破口。肝门右侧一曲张小静脉破裂出血, 考虑为TIPS术中肝外穿刺该位置变异静脉所致, 外科处理出血静脉后未再发现活动性出血, 康复治疗1 mo后腹水基本消退。其余未出现与操作相关并发症。术后1 mo内发生肝性脑病23例, 其中2例为术后1 wk内出现IV期肝性脑病, 内科治疗后好转, 其余21例患者术后1 wk内出现临床I - II期肝性脑病, 主要表现为头昏、嗜睡、意识模糊、行为异常等, 内科治疗后症状消失。

2.3 术后随访及分流道通畅情况 除外失访及死于其他疾病的病例, 随访期间观察到19例出血复发, 出血时间为术后3-1597 d, 其中3例术后7 d内死亡。另16例经过肝脏多普勒超声或门静脉造影证实为分流道闭塞或狭窄。其中肝静脉端狭窄并血栓形成5例、支架覆膜部分阻塞门静脉分支导致支架门静脉端血栓形成3例, 通过分流道球囊扩张并在门静脉端在植入一枚裸支架解决(图1), 支架门静脉端出口平面与门静脉壁夹角过小而导致门静脉壁覆盖支架门静脉端大部分而形成所谓“盖帽”现象, 通过再门静脉端再植入裸支架起支撑作用解决(图2), 进而形成血栓8例。16例中2例再行经肝中静脉穿刺门静脉左支TIPS, 12例开通闭塞门静脉并行分流道球囊扩张, 同时植入裸支架支撑分流道肝静脉端或门静脉端, 另2例因门静脉内广泛血栓

■应用要点

随着对覆膜支架TIPS术临床应用研究的不断深入,其早期应用改善出血患者临床症状及生存率的巨大作用得以证实,在暂时无法应用TIPS专用支架的情况下,全覆膜支架的应用及其应用技巧的探索有重要的临床价值。

形成而治疗失败。分流道1年的累积通畅率为86.7%,2年通畅率为75.2%。

3 讨论

本组病例分流道通畅率与国外文献报道的TIPS专用支架的通畅率相当^[4],高于以往文献报道的裸支架通畅率^[5,6]。肝性脑病的发生仍然是TIPS术无法回避和解决的问题,在满足有效降低门静脉压力和门体循环压力梯度的前提下,尽量使用小直径的支架理论上可以减少肝性脑病的发生及程度。为追求门静脉压力的控制,早期多采用直径8-10 mm支架,之后主要采用直径7 mm及8 mm支架,理论上在有效分流的同时减少分流量可以控制肝性脑病的发生率,但因病例数不足而没有进行不同直径分流道之间肝性脑病发生率的对比研究。Saxon等^[7]认为直径8 mm的支架也许是防止肝性脑病与适当分流的契合点,但选择直径7 mm或更小的支架事后可以大幅度降低肝性脑病发生率同时能保持稳定的分流量等问题还有待临床观察和研究。

裸支架易发生狭窄的原因有肝组织向支架内长入,支架成角等,特别是胆汁漏出直接刺激支架内血栓形成或导致假性内膜异常增生^[8,9]。基于该理论,诞生了以阻止胆汁漏出为主要目的覆膜支架。覆膜结构理论上可以消除血栓形成、假性内膜异常增殖、胆汁外漏和肝静脉内膜超常增生等四种因素导致的支架狭窄或阻塞。目前TIPS专用支架还无法在国内应用,TIPS术均采用全覆膜支架。与专用支架相比,全覆膜支架全程覆盖PTFE膜,仅在支架两端留有长度2 mm的裸露部分,用于安置金属钽标志物。而TIPS专用支架在门静脉端有2 cm无覆膜部分,与覆膜部分之间用金属环分隔并有黄金标记。

在实际应用中,全覆膜结构有以下优势^[10-15]。(1)简化了操作程序:植入全覆膜支架时可不考虑门静脉端的短缩或者移位,一定程度上简化了操作,降低了手术难度,提高了成功率;(2)能减少门静脉端血流动力学紊乱的发生:支架的门静脉端可深入至门静脉分叉水平甚至门静脉主干内并与之相倚靠,相当于人为地延长了肝实质分流道,可避免分流道与门静脉成角的情况,理论上可以减少门静脉入口端血流动力学紊乱的发生。但这方面与TIPS专用支架的差别还无法证实。

但是全覆膜结构也带来了一些问题,支架过多深入门静脉,支架壁可能阻塞门静脉分支

开口而导致局部血栓形成,继而造成门脉高压复发或者分流道功能障碍;为满足支架近端完全覆盖肝静脉端而可能出现支架门静脉端伸入不足,出现支架门静脉端出口平面与门静脉壁过于贴近且呈锐角的所谓“盖帽”现象,这会导致分流不足、支架门静脉端血流动力学紊乱而形成血栓、甚至分流道门静脉端阻塞的情况。TIPS专用支架则可以有效避免以上两种情况,门静脉端的裸支架支撑结构能使覆膜部分与门静脉壁保持一定的距离而防止“盖帽”的发生,同时支架裸露部分避免了门静脉分支的阻塞。

理论上良好的分流道要求支架长度完全与肝实质分流道与肝静脉端长度总和相等,而在实际中这几乎不可能,为了兼顾两者,对发生“盖帽”病例的支架门静脉端再植入一枚相同直径的裸支架,并使其伸出覆膜支架门静脉端约2 cm,即采用所谓“双支架”处理,可以还原专用支架的结构,有效避免“盖帽”发生。也证明了TIPS专用支架结构设计的合理性。

随着对覆膜支架TIPS术临床应用研究的不断深入,其早期应用改善出血患者临床症状及生存率的巨大作用得以证实,在暂时无法应用TIPS专用支架的情况下,全覆膜支架的应用及其应用技巧的探索有重要的临床价值。

4 参考文献

- 1 Haskal ZJ, Davis A, McAllister A, Furth EE. PTFE-encapsulated endovascular stent-graft for transjugular intrahepatic portosystemic shunts: experimental evaluation. *Radiology* 1997; 205: 682-688 [PMID: 9393521]
- 2 ter Borg PC, Hollemans M, Van Buuren HR, Vlegaar FP, Groeneweg M, Hop WC, Laméris JS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunts: long-term patency and clinical results in a patient cohort observed for 3-9 years. *Radiology* 2004; 231: 537-545 [PMID: 15044746 DOI: 10.1148/radiol.2312021797]
- 3 García-Pagán JC, Caca K, Bureau C, Laleman W, Appenrodt B, Luca A, Abraldes JG, Nevens F, Vinel JP, Mössner J, Bosch J. Early use of TIPS in patients with cirrhosis and variceal bleeding. *N Engl J Med* 2010; 362: 2370-2379 [PMID: 20573925 DOI: 10.1056/NEJMoa0910102]
- 4 Hausegger KA, Karnel F, Georgieva B, Tauss J, Portugaller H, Deutschmann H, Berghold A. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation with the Viatorr expanded polytetrafluoroethylene-covered stent-graft. *J Vasc Interv Radiol* 2004; 15: 239-248 [PMID: 15028808 DOI: 10.1097/01.RVI.0000116194.44877.C1]
- 5 Luo X, Nie L, Tsao J, Wang Z, Tang C, Li X. Parallel shunt for the treatment of transjugular intrahepatic portosystemic shunt dysfunction. *Korean J Radiol* 2013; 14: 423-429 [PMID: 23690708 DOI: 10.3348/kjr.2013.14.3.423]

- 6 Lind CD, Malisch TW, Chong WK, Richards WO, Pinson CW, Meranze SG, Mazer M. Incidence of shunt occlusion or stenosis following transjugular intrahepatic portosystemic shunt placement. *Gastroenterology* 1994; 106: 1277-1283 [PMID: 8174889]
- 7 Saxon RR. A new era for transjugular intrahepatic portosystemic shunts? *J Vasc Interv Radiol* 2004; 15: 217-219 [PMID: 15028804 DOI: 10.1097/01.RVI.0000116862.34422.A5]
- 8 Sze DY, Vestring T, Liddell RP, Kato N, Semba CP, Razavi MK, Kee ST, Dake MD. Recurrent TIPS failure associated with biliary fistulae: treatment with PTFE-covered stents. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1999; 22: 298-304 [PMID: 10415219 DOI: 10.1007/s002709900392]
- 9 卢勤, 滕皋军. 经颈静脉肝内门腔静脉分流术中胆汁漏出对内皮细胞生长及功能的影响. *中华放射学杂志* 2002; 36: 698-701
- 10 Luca A, D'Amico G, La Galla R, Midiri M, Morabito A, Pagliaro L. TIPS for prevention of recurrent bleeding in patients with cirrhosis: meta-analysis of randomized clinical trials. *Radiology* 1999; 212: 411-421 [PMID: 10429698]
- 11 Burroughs AK, Vangeli M. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus endoscopic therapy: randomized trials for secondary prophylaxis of variceal bleeding: an updated meta-analysis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 249-252 [PMID: 11916185 DOI: 10.1080/003655202317284138]
- 12 徐克, 韩国宏. 正确认识经颈静脉肝内门体分流术治疗肝硬化门静脉高压并发的地位. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 481-482
- 13 魏波, 陈爽, 李肖, 唐承薇. 经颈静脉肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞术降低曲张静脉再出血率的研究. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 494-497
- 14 Bureau C, Garcia-Pagan JC, Otal P, Pomier-Layrargues G, Chabbert V, Cortez C, Perreault P, Péron JM, Abalde JG, Bouchard L, Bilbao JL, Bosch J, Rousseau H, Vinel JP. Improved clinical outcome using polytetrafluoroethylene-coated stents for TIPS: results of a randomized study. *Gastroenterology* 2004; 126: 469-475 [PMID: 14762784 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.016]
- 15 Pan JJ, Chen C, Geller B, Firpi R, Machicao VI, Caridi JG, Nelson DR, Morelli G. Is sonographic surveillance of polytetrafluoroethylene-covered transjugular intrahepatic portosystemic shunts (TIPS) necessary? A single centre experience comparing both types of stents. *Clin Radiol* 2008; 63: 1142-1148 [PMID: 18774362 DOI: 10.1016/j.crad.2008.04.016]

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 讨论丰富, 对临床医师有很好的参考价值。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



聚乙二醇干扰素抗病毒治疗CHC与HCV/HBV共感染者的近期疗效

于兰芳, 张泽敏, 袁成江, 陈发明, 彭蕴蕴

■背景资料

我国流行病学调查显示, 我国属于乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)高发国家。如何有效治疗HBV、HCV就成为了我国目前以及将来很长一段时间内的主要任务。目前临床上用于治疗HBV、HCV的抗病毒药物众多, 但绝大多数药物的作用有限, 或只能起到暂时性的抑制病毒复制作用, 长期效果往往不佳。

于兰芳, 张泽敏, 袁成江, 陈发明, 彭蕴蕴, 贵州省六盘水市水城矿业总医院感染科 贵州省六盘水市 553000

于兰芳, 副主任医师, 主要从事肝脏方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由于兰芳设计; 研究过程由于兰芳与张泽敏完成; 数据分析由袁成江、陈发明及彭蕴蕴完成; 写作由于兰芳、张泽敏、袁成江、陈发明及彭蕴蕴共同完成。

通讯作者: 于兰芳, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区水西路17号, 贵州省六盘水市水城矿业总医院感染科。yulanfang_gz@163.com

电话: 0858-8221132

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-26

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-28

Clinical effect of PEG-IFN in treatment of CHC and HCV/ HBV co-infection

Lan-Fang Yu, Ze-Min Zhang, Cheng-Jiang Yuan, Fa-Ming Chen, Yun-Yun Peng

Lan-Fang Yu, Ze-Min Zhang, Cheng-Jiang Yuan, Fa-Ming Chen, Yun-Yun Peng, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Lan-Fang Yu, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, 17 Shuixi Road, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. yulanfang_gz@163.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-26

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To observe the clinical effect of pegylated interferon (PEG-IFN) in the treatment of chronic hepatitis C (CHC) and hepatitis C virus/hepatitis B virus (HCV/HBV) co-infection.

METHODS: Venous samples were collected from 25 CHC patients and 25 HCV/HBV patients for detection of HCV RNA, HBV DNA and liver fibrosis.

RESULTS: After one year of treatment, the rate of HCV RNA negativity was 52.0% in the CHC group and 28.0% in the HCV/HBV group ($P < 0.05$); liver function was improved in both groups (both $P < 0.05$), and the improvement did not differ significantly between the two groups (P

> 0.05); and posttreatment hyaluronic acid level was significantly lower than pretreatment value in the HCV group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Although PEG-IFN has a better clinical effect in the treatment of CHC than HCV/HBV co-infection, it has an inhibitory effect on HCV and can partly improve the body's immune function and liver function.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pegylated interferons; Chronic hepatitis C; Hepatitis C virus; Hepatitis B virus

Yu LF, Zhang ZM, Yuan CJ, Chen FM, Peng YY. Clinical effect of PEG-IFN in treatment of CHC and HCV/HBV co-infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3270-3274 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3270>

摘要

目的: 观察聚乙二醇干扰素(pegylated interferon, PEG-IFN)治疗慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)与丙型肝炎病毒/乙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV/hepatitis B virus, HBV)共感染者疗效观察。

方法: 临床选取CHC与HCV/HBV共感染患者各25例, 抽取患者静脉血进行HCV RNA、HBV DNA以及肝脏纤维化指标。两组患者均采取PEG-IFN联合利巴韦林治疗48 wk, 观察临床疗效。

结果: 经过1年治疗, CHC组患者血清中HCV RNA阴性检测率为52.0%, HCV/HBV组患者血清中HCV RNA阴性检测率为28.0%, 两组比较差异具有显著性($P < 0.05$); 2组患者治疗后血清血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)均有不同程度的下降, 与治疗前比较差异具有显著性($P < 0.05$); 治疗后2组间血清ALT、AST比较差异无统计学意义($P > 0.05$);

■同行评议者

李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

治疗后HCV组血清透明质酸(hyaluronic acid, HA)水平较治疗前明显降低($P<0.05$).

结论: PEG-IFN抗病毒治疗CHC的疗效要优于HCV/HBV共感染患者, 但是PEG-IFN对HCV有一定的抑制作用, 并部分改善机体免疫功能及肝功能.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 聚乙二醇干扰素; 慢性丙型肝炎; 丙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒

核心提示: 本研究中, 采用PEG-IFN联合利巴韦林共同进行抗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)治疗. 结果提示, HCV组患者中, 经过PEG-IFN治疗后, 获得HCV感染的持续病毒学应答率(52.0%)明显高于HCV/乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)共感染组(28.0%). 此外, 对2组患者的联合应答率(HCV RNA与HBV DNA皆转阴)进行比较, 发现HCV/HBV共感染组仅为7.17%, 明显低于HCV组的52.0%. 该结果说明, 以HCV为优势病毒的HCV/HBV共感染比单一病毒感染疗效差, 因此, 临床上对于该类HCV/HBV共感染患者需要优化现有治疗.

于兰芳, 张泽敏, 袁成江, 陈发明, 彭蕴蕴. 聚乙二醇干扰素抗病毒治疗CHC与HCV/HBV共感染者的近期疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3270-3274 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3270>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)与丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是造成慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B)、慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)最主要的病原体^[1]. 我国流行病学调查显示^[2], 我国属于HBV、HCV高发国家. 如何有效治疗HBV、HCV就成为了我国目前以及将来很长一段时间内的主要任务. 目前临床上用于治疗HBV、HCV的抗病毒药物众多, 但绝大多数药物的作用有限, 或只能起到暂时性的抑制病毒复制作用, 长期效果往往不佳^[3]. 干扰素(interferon, IFN)是近年来研究较多的一种抗病毒药物, 研究显示^[4], 干扰素治疗CHC的疗效较好, 接受干扰素治疗后, 患者HCV RNA转阴率较高. 但目前临床研究中, 对于干扰素治疗HCV/HBV共感染者的报道较少, 干扰素能否同时有效提高CHC与HCV/HBV共感染者的疗效、肝纤维化, 目前还不明确. 我们在临床工作中使用

聚乙二醇干扰素(pegylated interferon, PEG-IFN)治疗CHC与HCV/HBV共感染者, 阐述PEG-IFN在上述疾病治疗中的疗效, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究病例50例, 均为我院2011-01/2012-01门诊及住院患者. 根据患者的肝炎类型进行临床分组, 其中25例患者为HCV感染组, 25例患者为HCV/HBV共感染组. HCV感染组中, 男19例, 女6例, 年龄37-69岁, 平均年龄48.2岁±12.4岁. 血清HCV RNA检查 $\geq 10^4$ 拷贝/mL, HBsAg阴性; HCV/HBV共感染组中, 男18例, 女7例, 年龄39-68岁, 平均年龄48.5岁±12.2岁. 血清HCV RNA检查 $\geq 10^4$ 拷贝/mL, HBsAg阳性. 对患者HBV DNA定量进行分析, 其中14例患者HBV DNA定量 $\geq 10^3$ 拷贝/mL, $\leq 10^5$ 拷贝/mL, 11例患者HBV DNA检测为阴性. 所有患者在入组时均进行血液检查, 排除其他病毒、细菌等感染. 采用统计学分析对两组患者性别、年龄等资料进行比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 有可比性. 诊断依据^[5,6]: CHC的临床诊断标准参考《丙型肝炎防治指南》(2004年中华医学会). CHB的临床诊断标准参考《慢性乙型肝炎防治指南》(2006年中华医学会).

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 治疗方案参考《丙型肝炎防治指南》(2004年中华医学会)中推荐的方案, 为PEG-IFN联合利巴韦林. 药物使用方法如下: PEG-IFN: 180 μ g/次, 1次/wk, 皮下注射. 治疗期间, 同时给予利巴韦林进行口服, 1000 mg/次, 1次/d. 所有患者的疗程均为48 wk.

1.2.2 指标的检测: HCV及HBV定量检测使用PCR检测: (1)实验步骤: 将5 μ L 25 mmol/L MgCl₂加入50 μ L血清中, 98 $^{\circ}$ C变性15 min, 然后进行离心, 变性裂解液5 μ L加入标准反应液15 μ L中, 密封94 $^{\circ}$ C变性5 min, 进行45个循环. 所有反应在ABI Prism 7300型荧光定量PCR仪(Applied Biosystems, 美国)上进行, 检测下限为1000拷贝/mL. HBV 5M(HBsAg、HBeAg、抗-HBs、抗-HBe和抗-HBc)检测: 使用IMx自动免疫分析仪进行, 采用微粒子酶免分析法HBV 5M试剂盒, 仪器与试剂盒均购自Abbott公司, 实验操作按说明书进行. 肝功能检测: 使用自动生化仪对血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)进行检查. 肝纤维化指标检测: 应用化学发光法对血清透明质酸

■研发前沿
干扰素(interferon, IFN)是近年来研究较多的一种抗病毒药物, 研究显示, 干扰素治疗CHC的疗效较好, 接受干扰素治疗后, 患者HCV RNA转阴率较高. 但目前临床研究中, 对于干扰素治疗HCV/HBV共感染者的报道较少, 干扰素能否同时有效提高CHC与HCV/HBV共感染者的疗效、肝纤维化, 目前还不明确.

■相关报道

目前的研究认为, HCV/HBV共感染患者的预后往往较单一HBV感染或HCV感染患者差。有学者对HCV/HBV共感染患者进行了长达20年的随访,发现该类共同感染的患者,10年肝硬化的发病率极高,几乎达到50%。而出现肝细胞癌的概率亦有明显的上升,患者10、15、20年的肝癌发病率分别为14%、21%和32%。

表 1 PEG-IFN治疗48 wk后2组患者HCV RNA变化比较 (n , 拷贝/mL)

分组	n	阴性率(%)	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	总计
HCV组							
治疗前	0	0	0	11	10	4	25
治疗后	13	52.0 ^a	6	4	1	1	25
HCV/HBV共感染组							
治疗前	0	0	0	13	8	4	25
治疗后	7	28.0	8	8	1	1	25

^a $P < 0.05$ vs HCV/HBV共感染组治疗后. HCV: 丙型肝炎病毒; HBV: 乙型肝炎病毒。

表 2 2组患者治疗前后肝功能指标比较 ($n = 25$, mean \pm SD, U/L)

分组	ALT		AST	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
HCV组	185.2 \pm 123.4	52.3 \pm 24.1 ^a	132.3 \pm 54.5	42.3 \pm 12.4 ^c
HCV/HBV共感染组	186.7 \pm 124.2	54.2 \pm 24.7 ^a	132.6 \pm 56.2	44.1 \pm 13.2 ^c

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 同组治疗前. ALT: 血清谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶. HCV: 丙型肝炎病毒; HBV: 乙型肝炎病毒。

表 3 2组患者治疗前后肝脏纤维化指标比较 ($n = 25$, mean \pm SD, μ g/L)

分组	HA		PC III	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
HCV组	321.4 \pm 121.3	131.5 \pm 105.9 ^a	126.3 \pm 54.4	123.7 \pm 68.8
HCV/HBV共感染组	273.2 \pm 88.2	268.2 \pm 98.2	178.3 \pm 74.1	156.2 \pm 62.4

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前. HA: 透明质酸; PC III: III型前胶原. HCV: 丙型肝炎病毒; HBV: 乙型肝炎病毒。

(hyaluronic acid, HA)、III型前胶原(procollagen III, PC III)进行检查。

1.2.3 疗效评定标准: 按治疗方案完整进行48 wk的治疗, 在停药后进行24 wk的随访, HCV RNA为阴性表示治愈。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean \pm SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本 t 检验, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PEG-IFN治疗48 wk后2组患者HCV RNA变化比较 经过治疗, HCV组患者HCV RNA检测阴性率为52.0%, HCV/HBV共感染组患者HCV RNA检测阴性率为28.0%, 两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。14例HCV/HBV共感染组治疗

前HBV DNA阳性的患者, 经治疗后, 4例转阴, 转阴率为28.57%。其中1例HBV DNA及HCV RNA均转阴(表1)。

2.2 2组患者治疗前后肝功能指标比较 治疗前, 2组患者血清ALT、AST均较正常上限值明显升高, 2组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。经过48 wk的治疗, 2组患者血清ALT、AST均较治疗前明显下降($P < 0.05$)。治疗后2组血清ALT、AST比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.3 2组患者治疗前后肝脏纤维化指标比较 治疗前, 2组患者血清HA、PCIII均较正常上限值明显升高。经过48 wk的治疗, HCV组血清HA较治疗前明显下降($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

目前的研究认为^[7], HBV与HCV在感染的途径上, 存在较大的相似性, 特别在血液传播上, 是

引发临床CHB以及CHC的主要因素. 因此, 临床上一些HCV的感染, 是在HBV感染的基础上发生的^[8]. 此外, 还有一些患者, 同时出现HBV与HCV的感染, 临床上称为同时感染. 目前的研究认为^[9], HCV/HBV共感染患者的预后往往较单一HBV感染或HCV感染患者差. 有学者对HCV/HBV共感染患者进行了长达20年的随访, 发现该类共同感染的患者, 10年肝硬化的发病率极高, 几乎达到50%. 而出现肝细胞癌的概率亦有明显的上升, 患者10、15、20年的肝癌发病率分别为14%、21%和32%^[10]. 上述研究结果显示, HCV/HBV共感染可以促进慢性肝炎患者向着肝硬化及肝癌的方向发展. 因此, 如何有效延缓病情的进展, 减少肝硬化、肝癌等发生率就成为目前研究的重点. 当前研究认为^[11,12], 早期给予HCV/HBV共感染患者抗病毒是有利于临床治疗及预后的. 在HCV/HBV共感染患者中, 其血清中HBV DNA往往表达较少, 甚至低于仪器的最低检测下限. 因此, 对于临床治疗上, HCV就成为促进疾病进展的主要因素. 其中, HCV的清除就成为HCV/HBV共感染者的主要治疗目标. 《丙型肝炎防治指南》(2004年中华医学会)中对于该类患者的治疗, 建议HCV RNA阳性、HBV DNA阴性患者, 先考虑给予抗HCV治疗. 而对于HBV、HCV病毒均呈活动复制的患者, 考虑首先以干扰素联合利巴韦林共同清除HCV.

本研究中, 我院采用PEG-IFN联合利巴韦林共同进行抗HCV治疗. 结果提示, HCV组患者中, 经过PEG-IFN治疗后, 获得HCV感染的持续病毒学应答(sustained viral response, SVR)率(52.0%)明显高于HCV/HBV共感染组(28.0%). 此外, 对2组患者的联合应答率(HCV RNA与HBV DNA皆转阴)进行比较, 发现HCV/HBV共感染组仅为7.17%, 明显低于HCV组的52.0%. 该结果说明, 以HCV为优势病毒的HCV/HBV共感染比单一病毒感染疗效差, 因此, 临床上对于该类HCV/HBV共感染患者需要优化现有治疗.

在HCV组以及HCV/HBV共感染组中, 我们发现经过PEG-IFN治疗, 患者的肝功能均可以得到较大程度的改善. 说明PEG-IFN虽然治疗HCV/HBV共感染的疗效较差, 但是还是能够起到一定改善肝功能的作用, 这对延缓疾病的进展有着较大的临床意义. 此外, 在肝脏纤维化指标方面, 我们发现经过治疗, HCV组患者的血清HA较治疗前明显下降. 在HCV/HBV共感染组

中, 无论血清HA还是PCIII, 治疗前后水平均较高, 差异亦无统计学意义. 说明PEG-IFN可以缓解HCV患者肝脏纤维化, 而HCV/HBV共感染患者, 则缓解程度不明显.

干扰素是目前公认的可以对HBV、HCV病毒活性进行抑制的药物, 能够通过抗病毒和免疫调节发挥疗效^[13,14]. 曾有学者建议^[15], 对于HCV RNA与HBV DNA均为阳性的慢性肝炎患者, 可以考虑加大干扰素剂量的使用, 或延长治疗的时间. 曾有学者进行大剂量的干扰素治疗, 发现能够提高SVR率并改善预后. 但是, 由于时间、样本量等限制, 笔者未能对于该类患者进行大剂量干扰素的疗效及安全性观察, 这还有待于下一步研究的深入.

总之, PEG-IFN抗病毒治疗CHC的疗效要优于HCV/HBV共感染患者, 但是PEG-IFN对HCV均有一定的抑制作用, 并部分改善机体免疫功能及肝功能.

4 参考文献

- 1 李茂英. 聚乙二醇干扰素单用与联合核苷(酸)类似物治疗慢性乙型肝炎的荟萃分析. 重庆医科大学, 2012
- 2 陈靖, 郑琦, 江家骥, 郑佳萍. 聚乙二醇干扰素 α -2a治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎疗效的影响因素分析. 中南大学学报(医学版) 2012; 37: 714-719
- 3 蒋忠胜, 温小凤, 李敏基, 张鹏, 胡家光, 陈念, 柯柳, 覃川. HIV/HCV双重感染者抗HCV治疗时机的探讨. 中国全科医学 2012; 15: 1276-1277, 1280
- 4 曲思麦, 韩峰, 吴丹, 张琳. 干扰素治疗慢性丙型肝炎获得快速和早期病毒学应答的影响因素. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2281-2287
- 5 王鑫, 高香翠, 时雯雯, 张国民. 慢性丙型肝炎的个体化抗病毒治疗进展. 广东医学 2012; 33: 1516-1518
- 6 常艳. 核酸测序法检测HCV基因型及分子流行病学研究. 天津: 天津医科大学, 2012
- 7 陈务卿. 干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的疗效观察. 临床合理用药杂志 2012; 5: 59
- 8 李明慧, 张艳丽, 张璐, 李明慧, 张艳丽, 张璐, 申戈, 邱国华, 路遥, 庄立伟, 高媛娇, 杨民, 吴云, 谢尧, 成军, 徐道振. 难治性慢性丙型肝炎强化治疗疗效研究. 中华实验和临床病毒学杂志 2012; 26: 374-378
- 9 李权润, 张长江, 熊瑜琳, 朱研, 谭朝霞, 胡亚君, 袁婧, 王小红. 干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎长期随访中的复发及其影响因素. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 353-356
- 10 许文君, 李秀惠, 李红艳, 勾春燕, 靳华, 李晶滢, 邱金鹏, 汪晓军. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林对慢性丙型肝炎患者中医辨证分型的影响. 北京中医药 2013; 32: 259-271
- 11 袁学兰, 李茂英, 张大志. 蛋白酶抑制剂联合聚乙二醇干扰素及利巴韦林治疗慢性丙型肝炎初治患者疗效及安全性的荟萃分析. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 357-362
- 12 黄荣, 杜娟, 李卫平, 李毅, 俞洁, 吕飞. 聚乙二醇干扰素 α -2a间隔10日与间隔7日治疗慢性丙型肝炎临床观察. 中西医结合肝病杂志 2011; 21: 14-16
- 13 王瑞, 刘钰佩, 王会清, 钱静, 赵研, 段毅力. 老年慢性丙型肝炎患者抗病毒治疗的疗效及安全性. 中国老年

■创新盘点

曾有学者进行大剂量的干扰素治疗, 发现能够提高SVR率并改善预后. 但是, 由于时间、样本量等限制, 笔者未能对于该类患者进行大剂量干扰素的疗效及安全性观察, 这还有待于下一步研究的深入.

■同行评价

本文采用PEG-IFN联合利巴韦林共同进行抗HCV治疗,设计合理,对临床医师有很好的参考价值。

- 14 魏来. 2012年丙型肝炎领域的研究进展. 中华肝脏病杂志 2013; 21: 164-166

- 15 刘静, 林潮双, 胡三红, 梁美玲, 越志新, 高志良. 聚乙二醇干扰素 α -2a治疗慢性丙型肝炎患者生活质量的研究. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 890-893

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能写Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*l*n-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化

黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 季代金, 张文华, 史小英, 王平, 汤敏, 谭瓚, 谢永祥, 赵睿婷

黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 季代金, 史小英, 王平, 汤敏, 谭瓚, 谢永祥, 赵睿婷, 中国人民解放军第452医院消化内分泌科 四川省成都市 610021

张文华, 中国人民解放军第452医院放射科 四川省成都市 610021

黄茂涛, 主任医师, 主要从事消化系统疾病以及干细胞方面研究。

四川省卫生厅科研课题基金资助项目, No. 100193

作者贡献分布: 此课题由黄茂涛设计; 研究过程由黄茂涛、曹亚玲、冯早明、季代金、张文华、史小英、王平、汤敏、谭瓚、谢永祥及赵睿婷完成; 数据分析及论文写作由黄茂涛、曹亚玲及冯早明完成。

通讯作者: 黄茂涛, 主任医师, 610021, 四川省成都市锦江区工农院街1号, 中国人民解放军第452医院消化内分泌科。

mysteriousec@qq.com

电话: 028-86590231

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-08-26

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-28

TIPS combined with autologous bone marrow stem cell transplantation for treatment of decompensated liver cirrhosis

Mao-Tao Huang, Ya-Ling Cao, Zao-Ming Feng, Dai-Jin Ji, Wen-Hua Zhang, Xiao-Ying Shi, Ping Wang, Min Tang, Huan Tan, Yong-Xiang Xie, Rui-Ting Zhao

Mao-Tao Huang, Ya-Ling Cao, Zao-Ming Feng, Dai-Jin Ji, Xiao-Ying Shi, Ping Wang, Min Tang, Huan Tan, Yong-Xiang Xie, Rui-Ting Zhao, Department of Gastroenterology and Endocrinology, the 452nd Hospital of PLA, Chengdu 610021, Sichuan Province, China

Wen-Hua Zhang, Department of Radiology, the 452nd Hospital of PLA, Chengdu 610021, Sichuan Province, China

Supported by: the Foundation of Sichuan Provincial Department of Public Health, No. 100193

Correspondence to: Mao-Tao Huang, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Endocrinology, the 452nd Hospital of PLA, 1 Nongyuan Street, Jinjiang District, Chengdu 610021, Sichuan Province, China. mysteriousec@qq.com

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-08-26

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) combined with autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment of decompensated liver cirrhosis.

METHODS: Five patients with decompensated liver cirrhosis caused by hepatitis B, of whom two had Child-Pugh class B and three had Child-Pugh class C disease, underwent simultaneous combination therapy with TIPS and autologous bone marrow stem cell transplantation. All patients were followed for one year. Clinical symptoms, physical signs, biochemical indices, and endoscopic findings were compared between before and after the combination therapy.

RESULTS: Ascites was alleviated in all patients after treatment. Each patient was followed at 1, 4, 12, 25, and 52 wk after treatment. All patients achieved substantial improvement in clinical symptoms and biochemical indices. The varices in the esophagus and gastric fundus were alleviated as shown by endoscopic observation, and no upper gastrointestinal bleeding occurred. During the 52-wk follow-up period, no patients experienced refractory ascites, and the patients showed only small amounts of ascites. Liver function was remarkably improved; albumin (ALB) increased significantly (from 27.3 g/L to 31.5 g/L, $P = 0.014$), total bilirubin (TB) decreased significantly (from 49.5 $\mu\text{mol/L}$ to 41.8 $\mu\text{mol/L}$, $P = 0.045$), and all patients showed decreased alanine aminotransferase (ALT) (from 54.3 IU/L to 45.7 IU/L, $P = 0.063$) and prothrombin time (PT) (from 18.7 s to 16.5 s, $P = 0.063$). Liver cirrhosis was classified as Child-Pugh class B in all patients.

CONCLUSION: TIPS in combination with bone marrow stem cell transplantation is associated with remarkable therapeutic effects and minimal adverse reactions in the treatment of decompensated liver cirrhosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Transjugular intrahepatic; Portosystemic shunt; Stem cell transplantation

Huang MT, Cao YL, Feng ZM, Ji DJ, Zhang WH, Shi XY, Wang P, Tang M, Tan H, Xie YX, Zhao RT. TIPS combined

■背景资料

中国是乙型肝炎后肝硬化高发区。对于失代偿期肝硬化除了肝移植没有好的办法, 而肝源的限制及昂贵的移植费用, 使肝移植对大多数国人来说并不现实。经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)能有效降低门脉高压, 而干细胞移植能改善肝功能, 联合二者是否有较好的效果需要进一步探讨。

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■研发前沿

TIPS能缓解肝硬化所致的门脉高压症,干细胞移植治疗非血液系统疾病如晚期肝硬化、糖尿病等是现在研究的热点,两者的结合势必有利于晚期肝硬化症状的改善。

with autologous bone marrow stem cell transplantation for treatment of decompensated liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(30): 3275-3280 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3275>

摘要

目的: 探讨经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的有效性和安全性。

方法: 失代偿期乙型肝炎后肝硬化患者5例,2例患者Child-Pugh评分B级,3例患者Child-Pugh评分C级。同时行TIPS和自体骨髓干细胞移植,随访1年,比较患者术前术后的症状、体征、生化指标、内镜下改变。

结果: 术后所有患者腹水减少,术后分别于1、4、12、25、52 wk随访。所有患者临床表现、生化指标均有改善,内镜下食管和胃底静脉曲张程度减轻,未发生上消化道出血。术后第52周(1年)所有患者未再出现顽固性腹水,腹水维持在少量。复查肝功,白蛋白(albumin, ALB)从27.3 g/L升至31.5 g/L($P = 0.014$)、总胆红素(total bilirubin, TB)从49.5 $\mu\text{mol/L}$ 降至41.8 $\mu\text{mol/L}$ ($P = 0.045$)、转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)从54.3 IU/L降至45.7 IU/L($P = 0.063$)以及凝血酶原时间(prothrombintime, PT)从18.7 s降至16.5 s($P = 0.063$)略减低,Child-Pugh评分均为B级。

结论: TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化疗效显著、不良反应小、有较高的安全性,值得进一步的探索。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 经颈静脉肝内; 门体分流; 干细胞移植

核心提示: 经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)能缓解肝硬化所致的门脉高压症,干细胞移植治疗非血液系统疾病如晚期肝硬化等是21世纪研究的热点,应用TIPS联合肝内干细胞移植的方法治疗,很有创新性,而且有效,值得进一步探索。

黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 季代金, 张文华, 史小英, 王平, 汤敏, 谭璐, 谢永祥, 赵春婷。TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化。世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3275-3280 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3275>

0 引言

中国是慢性乙型肝炎高发地区,现有的慢性乙型肝炎病毒感染者约9300万例,其中慢性乙型肝炎患者约2000万例^[1],中国的大部分肝硬化患者由慢性乙型肝炎发展而来。目前对失代偿期肝硬化的治疗尚缺乏有效手段,治疗目标主要局限于缓解并发症,除了肝移植,尚无一种对门脉高压和肝功能衰竭两大方面病变均有效的办法。由于肝源的限制及昂贵的移植费用,肝移植对大多数国人来说并不现实。经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)能有效降低门脉高压,从而改善门脉高压症^[2,3],但不能改善肝功;而干细胞移植能改善肝硬化患者的肝功能^[4-6],是目前及未来治疗肝硬化最有前途的方法之一,但不能缓解门脉高压。那么,能不能联合二者治疗失代偿期肝硬化呢?然而,目前尚无联合二者治疗肝硬化的报道,我们进行了这方面的尝试,旨在探索肝硬化的综合治疗方向。

1 材料和方法

1.1 材料 失代偿期肝硬化5例,年龄39-71岁,平均59岁,其中男4例,女1例,均为乙型肝炎后肝硬化。根据国际腹水俱乐部的诊断标准^[7],确诊4例顽固性肝硬化腹水;1例患者因反复上消化道出血入院。5例患者行胃镜均示食管静脉曲张重度,1例患者兼有胃底静脉曲张。2例患者Child-Pugh评分B级,3例患者Child-Pugh评分C级(表1)。根据2010年中华医学会制定的慢性乙型肝炎防治指南的诊断标准进行诊断并给予抗病毒治疗^[8]及其他对症处理,4例顽固性腹水患者经抽放腹水、利尿、输注人血白蛋白(albumin, ALB)等处理(术前患者ALB水平很低)(表1),腹水仍为中到大量,1例出血患者经内科治疗止血停止。

1.2 方法

1.2.1 骨髓采集及干细胞分离、鉴定: 治疗前,患者及家属充分知情,并签署知情同意书。骨髓采集:在我院手术室采集患者自体骨髓。患者取俯卧位,取两侧髂后上棘为穿刺点,以18号骨髓穿刺针穿刺,多点采集,共采集200 mL注入血袋,以枸橼酸钠抗凝。用冰盒盛血袋立即送入中心实验室。干细胞分离及鉴定:采用中航(宁夏)生物有限责任公司(<http://www.avicbio.com/>)和加拿大威尔森公司(Weakthlin Science & Technology Inc., Canada)合作研制的骨髓、脐带血细胞处理试剂盒(marrow and cord blood stem cells

■相关报道

据国内外文献报道,微创技术TIPS对改善门脉高压效果良好(尤其是食管胃底静脉曲张出血、顽固性腹水),而干细胞移植在改善肝功、提高白蛋白等方面表现突出。

表 1 患者治疗前后肝功比较

	P1	P2	P3	P4	P5
性别	男	男	男	男	女
年龄(岁)	58	71	39	62	65
术前					
Child-Pugh评分	7	11	12	8	10
ALB(g/L)	31.2	26.5	22.8	28.7	27.3
ALT(IU/L)	49.5	56.2	61.4	52.7	51.9
TB(μ mol/L)	40.2	53.8	55.5	45.8	52.1
PT(s)	16.3	22.6	19.8	16.5	18.3
术后52wk					
Child-Pugh评分	7	8	8	8	8
ALB(g/L)	34.3	29.6	31.1	32.5	30.2
ALT(IU/L)	36.7	45.8	55.9	41.7	48.5
TB(μ mol/L)	37.7	51.2	50.4	32.3	37.3
PT(s)	15.4	17.8	16.3	15.9	17

P1-P5: 患者1-5. ALB: 白蛋白; ALT: 丙氨酸转氨酶; TB: 总胆红素; PT: 凝血酶原时间.

■创新盘点

TIPS缓解门脉高压、干细胞移植改善肝功, 但将二者结合治疗肝硬化很少见诸报道, 这是很好的创意.

isolating reagents)分离. 试剂盒采取负收集混合法, 将去除的细胞作为靶细胞, 进行分步去除, 没有使用标记物. 每步去除的成分都取样检测, 证明其仅含微量所需目标细胞(干细胞). 此方法能有效去除全部的红细胞、血小板、血浆物质及大部分成熟的白细胞、淋巴细胞, 保留所有的干细胞. 分离的干细胞进行计数、测细胞活力, 并用流式细胞仪检测干细胞的表面标志CD34、CD45、CD90、CD105、CD19及HLA-DR.

1.2.2 TIPS及干细胞移植: 常规消毒铺巾后, 在放射科导管室用数字减影技术(digital subtraction angiography, DSA), 在局部麻醉下穿刺右或左侧颈内静脉, 经颈静脉将TIPS肝穿套针Rupus-100(美国库克公司, Cook, Bloomington, IN)引入肝静脉, X线导向下穿刺门静脉, 根据肝静脉与门静脉的距离, 置入10 mm×50 mm或10 mm×70 mm覆膜支架(美国波士顿科学公司, Boston Scientific Corporation, Boston, MA). 最后, 常规消毒铺巾后, 局麻下穿刺入股动脉、经肝动脉注入干细胞悬液. 围术期处理: 术前患者均接受上腹部血管三维重建增强CT检查, 以明确门静脉系统和肝静脉空间关系, 并排除肝脏肿瘤. 术前进行血常规及凝血功能检查. 术后皮下注射低分子肝素钙2500 U, 每12 h一次, 注射持续5-7 d, 继以口服华法林(2.5-7.5 mg/d)半年, 根据国际标准化比值(international normalized ratio, INR) = 2.0来调整华法林的用药剂量.

1.2.3 随访: 术后随访1年. 记录每例患者术后1、4、12、25、52 wk(1年)的临床表现, 并行生化检查. 第52周均行胃镜检查.

统计学处理 术前、术后肝功[ALB、转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TB)、凝血酶原时间(prothrombintime, PT)]比较采用GraphPad Prism 5软件进行, 方差齐性采用配对 t 检验, 方差不齐采用非参数秩和检验(Wilcoxon signed rank test), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞鉴定 本课题使用的干细胞分离试剂, 去除了全部的红细胞、血小板、血浆物质及大部分成熟的白细胞、淋巴细胞, 保留所有的干细胞. 分离的细胞活力每例>92%. 获得总细胞数平均为 1.04×10^9 个, 经流式细胞仪鉴定, CD45⁺细胞平均 8.84×10^8 个, CD34⁺细胞平均 8.79×10^6 个. CD34⁺细胞占CD45⁺细胞的1.01%. 我们还进行了间充质干细胞的鉴定: 同时在细胞表面检测4个不同的抗体[即CD90、CD105、CD19及人白细胞DR抗原(human leukocyte antigen DR, HLA-DR)], 其中CD90及CD105均为阳性、CD19及HLA-DR均为阴性的细胞平均 1.04×10^7 个(表2).

2.2 改善腹水 5例均术前使用利尿剂, 剂量从呋塞米40 mg, 螺内酯100 mg逐渐递增至呋塞米160 mg, 螺内酯400 mg. 4例顽固性腹水者对利尿剂缺乏

■应用要点

本方案首次结合二者优势,对失代偿期肝硬化不失为一行之有效的方法,值得探讨。

表 2 移植干细胞量

	P1	P2	P3	P4	P5	mean ± SD
干细胞总数($\times 10^9$)	1.00	0.90	1.20	0.95	1.17	1.04 ± 0.13
CD45 ⁺ ($\times 10^9$)	9.30	8.29	8.90	8.69	9.01	8.84 ± 0.38
CD34 ⁺ ($\times 10^9$)	8.12	9.25	8.68	9.03	8.88	8.79 ± 0.43
CD34 ⁺ /CD45 ⁺ (%)	0.89	1.20	0.94	1.19	0.83	1.01 ± 0.17
MSC($\times 10^7$)	0.95	1.21	1.03	0.88	1.31	1.04 ± 0.18

P1-P5: 患者1-5. MSC: 间充质干细胞。

表 3 TIPS联合自体骨髓干细胞移植术前后的肝功能 (mean ± SD)

	ALB(g/L)	ALT(IU/L)	TB(μ mol/L)	PT(s)
术前	27.3 ± 3.08	54.3 ± 4.62	49.5 ± 6.35	18.7 ± 2.61
术后1 wk	24.7 ± 2.43	53.2 ± 5.19	49.1 ± 6.51	18.5 ± 1.99
术后4 wk	26.6 ± 1.60	51.0 ± 5.86	46.6 ± 5.88	17.9 ± 1.54
术后12 wk	28.4 ± 1.87	49.3 ± 6.58	45.4 ± 6.80	17.3 ± 1.41
术后25 wk	29.7 ± 2.16	46.0 ± 6.66	43.4 ± 7.58	16.9 ± 1.09
术后52 wk	31.5 ± 1.89	45.7 ± 7.23	41.8 ± 8.51	16.5 ± 0.94
P值(术前 vs 术后52 wk)	0.014	0.063	0.045	0.063

ALB: 白蛋白; ALT: 丙氨酸转氨酶; TB: 总胆红素; PT: 凝血酶原时间。

反应,尿量低于1000 mL/d,给予放腹水治疗,每次放1000-2000 mL,1次/d,每例4-5次,并给予输注人血白蛋白(albumin, ALB)20-40 g/d(放腹水时),尿量达1000 mL/d. TIPS联合干细胞移植术后,即日起每例尿量增至2300-2500 mL/d. 4例顽固性腹水患者,利尿剂逐渐减量至呋塞米40 mg,螺内酯100 mg,术后3 wk复查腹水为少量腹水,出院后随访观察,该患者与其他患者一样,仅需小剂量利尿剂(每天呋塞米40 mg或螺内酯40 mg交替使用)即可使尿量维持在1500 mL/d. 随访1年,腹水维持在少量,没有复发。

2.3 改善肝功 复查肝功, ALB多维持在正常或轻度偏低范围,出院后未再输注人血ALB. 第52周化验肝功,提示ALB从27.3 g/L升至31.5 g/L; TB从49.5 μ mol/L降至41.8 μ mol/L($P = 0.045$). ALT、PT等指标总体减低, Child-Pugh评分均为B级(表1, 3)。

2.4 复查胃镜 所有患者随访一年无呕血、黑便. 术后第52周复查胃镜,食管胃底静脉均为轻度曲张,无红色征,无需处理。

2.5 并发症 所有患者作骨髓穿刺、TIPS及干细胞移植时,均无明显不良反应. 4例患者术后2-3 d起反复发生 I - II 期肝性脑病,经内科治疗在24 h内缓解. 出院后随访1年,无肝性脑病发生。

3 讨论

肝硬化的严重并发症主要体现在门脉高压、肝脏的合成和代谢功能减退两方面,如何有效缓解、改善这两方面的病理生理改变,长期以来都是治疗肝硬化的重点方向. 门体分流术是缓解门脉高压的重要策略,血管介入分流是继外科分流之后的一种微创、疗效可靠的分流方法,即经颈静脉肝内门体分流术. 近年多家机构推荐TIPS用于食管胃底静脉曲张出血及难治性腹水的防治^[9-11],食管胃底静脉曲张致命性大出血时, TIPS优于外科手术;而对于顽固性腹水、肝肾综合征,除了肝移植, TIPS介入治疗也是最后的较佳方案. TIPS的两个主要并发症,分流道再狭窄及肝性脑病,曾一度使这一技术推广受限. 随着新型覆膜支架的应用、分流道的选择、术后恰当的抗凝治疗, TIPS术后分流道再狭窄率明显减少,结合恰当的内科治疗,术后肝性脑病也多可获得控制。

干细胞治疗是近年来治疗肝病的新型方法,而骨髓源干细胞是最主要来源之一. 研究表明,在骨髓中除了造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)外,还发现新的产生淋巴造血系统以外组织的功能的干细胞群. 这一发现开创了骨髓干细胞用于临床治疗的可能性. 研究发现,骨

髓含有高度可塑性干细胞, 可以直接从骨髓中纯化或来自培养的骨髓, 并且在特定条件下能够产生来自3个胚层的细胞. 这些纯化的干细胞, 包括间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)等, 研究表明, 不论体内还是体外, MSC具有广泛的分化潜能, 包括向成心肌细胞、神经外胚层和肝样细胞分化^[12]. 而骨髓来源的HSC在正常环境下可能对肝细胞再生不起作用, 当肝脏受损, 则能分化为肝细胞从而改善肝功能^[4,5,13-16], 尤其表现在明显增加血清ALB、降低TB, 一定程度上改善凝血功能.

本研究应用中航(宁夏)生物有限责任公司生产的骨髓血细胞处理试剂盒, 他采用负收集法和密度法相结合的方法, 以表面抗原Lin阳性细胞为靶细胞分离除去全部的红细胞、血小板、血浆物质, 这种方法能有效保留所有的干细胞/祖细胞. 所得到的干细胞/祖细胞表面没有任何抗体标记, 不存在生物安全性问题. 供体是自体, 没有伦理学的争议和排斥反应. 经鉴定, 用本方法分离、获得的干细胞包含CD34⁺细胞以及CD90⁺、CD105⁺、CD19⁻、HLA-DR-细胞等. 因此, 本方案获得的干细胞包含了HSC、MSC以及各种祖细胞等, 并保留了其微环境(niche), 这样, 他们就能协同作用, 最大限度的发挥作用, 因此疗效一定优于移植某种单一干细胞. 我科曾用该方法分离自体骨髓干细胞35例, 并行肝动脉内移植, 随访半年, 获得很好疗效(ALB增加、TB下降、PT、FIB接近正常)^[6].

综合文献和观察我科TIPS和干细胞移植的病例, 这两项技术都日趋成熟, 都有较为确切的疗效. 我科创造性、前瞻性地把以上两项技术相结合, 选择5例失代偿期肝硬化患者, 经TIPS的同时行自体骨髓干细胞移植, 以期在缓解门脉高压的同时, 也改善肝脏的生理功能, 从而最大程度的缓解晚期肝硬化的并发症、改善肝功能, 延长患者生存时间和提高其生存质量.

从我们选取病例的术后观察和随访看, 该联合治疗方法达到了令人激动的效果-既达到了TIPS手术的分流效应, 门脉高压得以减轻, 腹水减轻, 防治了上消化道出血及肝肾综合征, 也达到了干细胞移植所致的肝功能的改善, 即血清ALB合成明显增加($P = 0.014$)、TB明显降低($P = 0.045$), 而ALT及PT有所下降(表3). 从结果看, 说明本方案治疗肝硬化具有良好疗效.

从表3可知, TIPS联合干细胞移植治疗的病例较之单纯行TIPS^[17], 总体指标均较术前改善,

术后的凝血功能也较术前好转, 5例在随访期间无一出现消化系等部位出血现象, 故可推测干细胞移植治疗在TIPS术后肝性脑病发生、凝血功能减退引发出血的防治中也发挥了积极作用; 而肝性脑病的可控性、肝功能的改善, 这是单纯TIPS做不到的. 较之单纯干细胞移植仅改善肝功外, 联合方案还降低了门脉高压, 凝血机制也得到改善, 可进一步降低食管胃底静脉曲张出血的风险. 总之, 两者联合既改善肝功、降低门脉压力, 又降低了对应的风险. 解决了单纯干细胞移植不能解决的门脉高压所致的出血和单纯TIPS不能解决的肝功能的持续恶化的困境.

当然, 上述结论还有待进一步行单纯TIPS治疗和TIPS联合干细胞治疗的随机对照试验来证实. 通过上述初步观察, 获得较理想结果, 我科继续进行了随机对照研究, 即设置保守治疗组、单纯干细胞移植组、干细胞移植+TIPS组, 进一步证实该方法有效、安全.

可以期待, 这种联合治疗方法微创、安全、有效, 一次性完成操作, 减少创伤, 能相对完善地缓解肝硬化的晚期并发症, 是值得推广的综合治疗手段. 随着TIPS和干细胞移植治疗的进一步成熟, 对于多数乙型肝炎后肝硬化患者, 其以后的治疗方向可能是抗病毒治疗、介入方法缓解门脉高压症并联合干细胞移植治疗改善肝脏功能等综合性的方案.

志谢 感谢四川省脐带血造血干细胞库汪成孝教授对本课题中的干细胞分离、鉴定所作的技术指导.

4 参考文献

- 1 Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 3-4 [PMID: 19187608]
- 2 Bureau C, Garcia-Pagan JC, Otal P, Pomier-Layrargues G, Chabbert V, Cortez C, Perreault P, Péron JM, Abraldes JG, Bouchard L, Bilbao JJ, Bosch J, Rousseau H, Vinel JP. Improved clinical outcome using polytetrafluoroethylene-coated stents for TIPS: results of a randomized study. *Gastroenterology* 2004; 126: 469-475 [PMID: 14762784 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.016]
- 3 Henderson JM, Boyer TD, Kutner MH, Galloway JR, Rikkers LF, Jeffers LJ, Abu-Elmagd K, Connor J. Distal splenorenal shunt versus transjugular intrahepatic portal systematic shunt for variceal bleeding: a randomized trial. *Gastroenterology* 2006; 130: 1643-1651 [PMID: 16697728 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.02.008]
- 4 Lyra AC, Soares MB, da Silva LF, Fortes MF, Silva AG, Mota AC, Oliveira SA, Braga EL, de Carvalho WA, Genser B, dos Santos RR, Lyra LG. Feasibility

■名词解释

经颈静脉肝内门体分流术: 是用微创技术在肝内门静脉和肝静脉之间安置人工支架, 从而将门静脉血液分流到体循环, 降低门脉压; MSC(间充质干细胞)、HSC(造血干细胞): 为骨髓干细胞的一部分, 在一定条件下均能分化为肝细胞等.

■同行评价

失代偿期肝硬化属临床难治性疾病,作者应用TIPS联合肝内干细胞移植的方法治疗,很有创新性,而且有效,值得报道。

- and safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with advanced chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1067-1073 [PMID: 17373741]
- 5 Teraï S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, Yokoyama Y, Uchida K, Yamasaki T, Fujii Y, Okita K, Sakaida I. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24: 2292-2298 [PMID: 16778155 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0542]
- 6 黄茂涛, 季代金, 冯早明, 周炜, 王维萍, 谭曦, 赵睿婷, 陈杨, 汤敏. 经肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化. *实用医学杂志* 2010; 2: 3166-3168
- 7 Moore KP, Wong F, Gines P, Bernardi M, Ochs A, Salerno F, Angeli P, Porayko M, Moreau R, Garcia-Tsao G, Jimenez W, Planas R, Arroyo V. The management of ascites in cirrhosis: report on the consensus conference of the International Ascites Club. *Hepatology* 2003; 38: 258-266 [PMID: 12830009 DOI: 10.1053/jhep.2003.50315]
- 8 Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. [The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2010 version)]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2011; 19: 13-24 [PMID: 21272453 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2011.01.007]
- 9 Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- 10 Monescillo A, Martínez-Lagares F, Ruiz-del-Arbol L, Sierra A, Guevara C, Jiménez E, Marrero JM, Buceta E, Sánchez J, Castellot A, Peñate M, Cruz A, Peña E. Influence of portal hypertension and its early decompression by TIPS placement on the outcome of variceal bleeding. *Hepatology* 2004; 40: 793-801 [PMID: 15382120 DOI: 10.1002/hep.20386]
- 11 García-Pagán JC, Caca K, Bureau C, Laleman W, Appenrodt B, Luca A, Abalde JG, Nevens F, Vinel JP, Mössner J, Bosch J. Early use of TIPS in patients with cirrhosis and variceal bleeding. *N Engl J Med* 2010; 362: 2370-2379 [PMID: 20573925 DOI: 10.1056/NEJMoa0910102]
- 12 Bonnet D. Biology of human bone marrow stem cells. *Clin Exp Med* 2003; 3: 140-149 [PMID: 14648228 DOI: 10.1007/s10238-003-0017-9]
- 13 Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-1234 [PMID: 11062533 DOI: 10.1038/81326]
- 14 Jeffery R, Poulosom R, Alison MR. Sources of adult hepatic stem cells: haematopoietic. *Methods Mol Biol* 2009; 481: 141-154 [PMID: 19096804 DOI: 10.1007/978-1-59745-201-4_12]
- 15 am Esch JS, Knoefel WT, Klein M, Ghodsizad A, Fuerst G, Poll LW, Piechaczek C, Burchardt ER, Feifel N, Stoldt V, Stockschröder M, Stoecklein N, Tustas RY, Eisenberger CF, Peiper M, Häussinger D, Hosch SB. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* 2005; 23: 463-470 [PMID: 15790766 DOI: 10.1634/stemcells.2004-0283]
- 16 Gordon MY, Levicar N, Pai M, Bachellier P, Dimarakis I, Al-Allaf F, M'Hamdi H, Thalji T, Welsh JP, Marley SB, Davies J, Dazzi F, Marelli-Berg F, Tait P, Playford R, Jiao L, Jensen S, Nicholls JP, Ayav A, Nohandani M, Farzaneh F, Gaken J, Dodge R, Alison M, Apperley JF, Lechler R, Habib NA. Characterization and clinical application of human CD34+ stem/progenitor cell populations mobilized into the blood by granulocyte colony-stimulating factor. *Stem Cells* 2006; 24: 1822-1830 [PMID: 16556705 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0629]
- 17 Gaba RC, Khayatani VL, Knutinen MG, Omene BO, Carrillo TC, Bui JT, Owens CA. Comprehensive review of TIPS technical complications and how to avoid them. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 675-685 [PMID: 21343513 DOI: 10.2214/AJR.10.4819]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义

董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健

董晓彤, 黄莹, 单伟颖, 承德医学院护理学院 河北省承德市 067000

李巍, 陈健, 承德医学院附属医院 河北省承德市 067000

郑继宁, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

董晓彤, 硕士, 主要从事病理学的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由董晓彤、黄莹及李巍设计; 研究过程由董晓彤、黄莹、李巍、单伟颖、郑继宁及陈健操作完成; 研究所用试剂及分析工具由郑继宁提供; 数据分析由董晓彤、李巍及单伟颖完成; 本论文写作由董晓彤、黄莹及陈健完成。

通讯作者: 陈健, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院消化内科. nannan19790105@126.com
收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-09-07

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

Diagnostic significance of Caspase 3 and Bcl-2 expression in colon cancer

Xiao-Tong Dong, Ying Huang, Wei Li, Wei-Ying Shan, Ji-Ning Zheng, Jian Chen

Xiao-Tong Dong, Ying Huang, Wei-Ying Shan, Nursing College of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Wei Li, Jian Chen, the Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Ji-Ning Zheng, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Jian Chen, Attending Physician, the Affiliated Hospital of Chengde Medical University, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. nannan19790105@126.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-09-07

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To detect the expression of Caspase 3 and Bcl-2 in colon cancer and to analyze their diagnostic significance.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of Caspase 3 and Bcl-2 proteins in colon cancer, colon adenoma and normal colonic mucosa. The relationship between Caspase 3 and Bcl-2 protein expression with clinicopathological features of colon cancer was analyzed.

RESULTS: Compared with the normal colonic mucosa, the positive rate of Caspase 3 protein expression significantly declined in adenocarci-

noma and adenoma (90.0% vs 50.0%, 48.5%, both $P < 0.05$) and that of Bcl-2 protein expression significantly increased (30.0% vs 83.4%, 66.7%, both $P < 0.05$) in adenocarcinoma and adenoma. Caspase 3 and Bcl-2 protein expression was significantly related to the degree of tumor differentiation (both $P < 0.05$) but not to other clinicopathological features. Expression of Caspase 3 was negatively correlated with that of Bcl-2 ($r = -0.320$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Bcl-2 can be used as a marker for evaluation of the malignancy of colon cancer. Bcl-2 functions in colon cancer possibly by restraining Caspase 3 activation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Immunohistochemistry; Caspase 3; Bcl-2

Dong XT, Huang Y, Li W, Shan WY, Zheng JN, Chen J. Diagnostic significance of Caspase 3 and Bcl-2 expression in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3281>

摘要

目的: 探讨Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义。

方法: 通过采用免疫组织化学SP检测Caspase3、Bcl-2蛋白在结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达情况, 分析其阳性表达及强度与临床病理特征之间的联系。

结果: 在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显, 差异有统计学意义(50.0%, 48.5% vs 90.0%, 均 $P < 0.05$), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显, 差异有统计学意义(83.4%, 66.7% vs 30.0%, 均 $P < 0.05$)。

■背景资料

Caspase 3在肺癌、胃癌、卵巢癌等多种肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。Bcl-2是细胞凋亡抑制基因, 其可能通过抑制细胞凋亡而引起肿瘤的发生发展。本研究拟通过观察结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中Caspase3、Bcl-2蛋白的表达, 探讨其在结肠癌发生发展中的意义, 以期对结肠癌的早期诊断与治疗提供理论依据。

■同行评议者

吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

■ 研究前沿

结肠癌作为发病率、致死率较高的恶性肿瘤之一,其发病机制迄今尚不清楚,腺瘤是结肠癌中最常见、发病率最高的良性上皮性肿瘤,其发病率随着年龄增长而逐年增高,且统计数据显示:70%以上的结肠癌来源于腺瘤。

Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关($P<0.05$),且随着肿瘤分化程度的降低,Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低($P<0.05$),与其他临床病理特征差异无统计学意义,且Caspase3和Bcl-2呈现负相关($r = -0.320, P<0.05$)。

结论: Bcl-2作为是判断结肠癌恶性程度的参考指标之一,其可能通过抑制Caspase3激活抑制细胞凋亡,延长其生存时间,增加不稳定性基因,导致细胞凋亡异常及增生过度。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠癌; 免疫组织化学法; Caspase3; Bcl-2

核心提示: 本研究结果可见,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。

董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健. Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3281>

0 引言

结肠癌属于临床常见的恶性肿瘤之一,其发病涉及因素繁杂,且近年来该病的发病率呈现不断上升的趋势,在其致病机制研究中,“腺瘤-癌演进学说”的细胞增殖与凋亡失衡是目前较为公认的结肠癌发病机制^[1]。

Caspase3被称为细胞凋亡的执行者,以其具有剪切管家蛋白和DNA片段的功能,被认为是参与凋亡途径的关键效应分子,相关研究表明: Caspase3在肺癌、胃癌、卵巢癌等多种肿瘤的发生发展中发挥着重要作用^[2]。Bcl-2是细胞凋亡抑制基因,其可能通过抑制细胞凋亡而引起肿瘤的发生发展^[3]。因此,本研究拟通过观察结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中Caspase3、Bcl-2蛋白的表达,探讨其在结肠癌发生发展中的意义,以期对结肠癌的早期诊断与治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 55例结肠组织石蜡标本来源于承德医学院附属医院病理科、承德市中心医院病理科,其中结肠腺癌33例、腺瘤12例,正常结肠黏膜组织10例,且33例结肠癌患者均有完整的临床

资料,术前均未经放疗、化疗等抗肿瘤治疗。

结肠癌患者中男18例,女15例,年龄36-78岁,平均50.2岁;肿瘤大小(直径): <3 cm者12例,≥3 cm者21例;病例分级: 中分化腺癌18例,低分化腺癌9例,高分化腺癌6例;淋巴结转移情况: 无转移者21例;有转移者12例;Dukes分期: A期4例, B期9例, C期12例, D期8例。腺瘤患者中男8例,女4例,年龄33-82岁,平均53.7岁。正常结肠黏膜组织中男7例,女3例,年龄28-79岁,平均48.1岁。

SP试剂盒购自福州迈新生物技术公司; 兔抗人Caspase3多克隆抗体、鼠抗人Bcl-2单克隆抗体、山羊抗小鼠IgG抗体-辣根过氧化物酶(HRP)多聚体(PV-6000)、DAB显色剂购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 方法 参照试剂盒中免疫组织化学SP法步骤进行实验。实验结果采用光学显微镜观察并摄片,数据结果随机选取10个高倍镜下较为清晰的视野,计数阳性细胞占细胞总数的比例,取均值,分别记为0-4分,染色深度以按着色强度记分,记为0-3分。两者乘积即为阳性强度,分别为: 阴性(-)、弱阳性(+),中度阳性(++),强阳性(+++)。

统计学处理 所有数据经SPSS14.0统计学软件进行分析、处理, Bcl-2、Caspase3与各个相关因素的差异性比较采用 χ^2 检验,相关性研究采用Spearman法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Caspase3、Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达 由表1、2可知,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高。与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显,差异有统计学意义($P<0.05$), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显,差异有统计学意义($P<0.05$),腺瘤与腺癌两者相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达与大肠癌临床病理特征的关系 由表3可知, 33例结肠癌组织中Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关($P<0.05$),且随着肿瘤分化程度的降低, Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低,差异有统计学意义($P<0.05$),与患者年龄、性别、肿瘤直径、有无淋巴结转移、Dukes分期等临

表 1 Caspase3蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

分组	n	Caspase3[n(%)]		阳性表达率(%)	P值
		-	+		
正常结肠黏膜	10	1(10.00)	9(90.00)	90.0	0.002
腺瘤	12	6(50.00)	6(50.00)	50.0	0.004
腺癌	33	17(51.52)	16(49.50)	48.5	0.133

表 2 Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺瘤及癌组织中的表达

分组	n	Bcl-2[n(%)]		阳性表达率(%)	P值
		-	+		
正常结肠黏膜	10	7(70.00)	3(30.00)	30.0	0.014
腺瘤	12	2(16.67)	10(83.34)	83.4	0.010
腺癌	33	11(33.33)	22(66.67)	66.7	0.110

表 3 Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达与大肠癌临床病理特征的关系

病理特征	n	Bcl-2		P值	Caspase3		P值
		-	+		-	+	
年龄(岁)				0.133			0
<50	13	5	8		6	7	
≥50	20	6	14		11	9	
性别				0.09			0.11
男	18	7	11		6	12	
女	15	4	11		11	4	
肿瘤大小(cm)				0.893			0.921
<3	12	3	9		5	7	
≥3	21	8	13		12	9	
分级				0.011			0.01
中分化腺癌	6	1	5		1	5	
低分化腺癌	18	3	15		8	10	
高分化腺癌	9	8	1		8	1	
淋巴结转移				0.643			0.826
无	21	7	14		10	11	
有	12	4	8		7	5	
Dukes' 分期				0.26			0.103
A	4	1	3		1	3	
B	9	3	6		5	4	
C	12	5	7		6	6	
D	8	2	6		5	3	

■相关报道

Caspase3一旦被激活,细胞的凋亡将不可避免,其在细胞凋亡过程中发挥着关键作用。已有研究证实:Caspase3在肝癌、胃癌、乳腺癌等不同肿瘤组织中的表达程度及意义存在着较大差异,而在大肠癌中的失表达可能提示,其参与了大肠癌的发生及去分化过程。

床病理特征差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 Caspase3、Bcl-2蛋白的阳性表达强度与结肠癌临床病理特征的关系 由表4可知, 33例结肠癌组织中Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达强度均与肿瘤分化程度密切相关($P<0.05$), 且随着肿瘤分化程度的降低, Caspase3、Bcl-2阳性表达强度逐渐降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 与患

者年龄、性别、肿瘤直径、有无淋巴结转移、Dukes分期等临床病理特征差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 Caspase3蛋白与Bcl-2蛋白的相关分析 由表5可知, 33例结肠癌组织中, 有4例Caspase3和Bcl-2均存在阳性表达, 8例均为阴性表达, 两者呈负相关($r = -0.320$), 差异有统计学意义($P<0.049$)。

■应用要点

Bcl-2蛋白阳性表达率与浆膜浸润、淋巴结转移有正相关性,提示Bcl-2基因激活与大肠癌分化、转移有关,可作为大肠癌预后的指标之一。

表 4 Caspase3、Bcl-2蛋白的阳性表达强度与结肠癌临床病理特征的关系

病理特征	n	Bcl-2				P值	Caspase3				P值
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
年龄(岁)						0.133					0
<50	13	5	2	4	2		6	2	3	2	
≥50	20	6	5	5	4		11	4	4	1	
性别						0.091					0.089
男	18	7	3	4	4		6	3	5	4	
女	15	4	3	4	4		11	0	2	2	
肿瘤大小(cm)						0.824					0.925
<3	12	3	2	4	3		5	2	3	2	
≥3	21	8	5	5	3		12	5	0	3	
分级						0.045					0.031
中分化腺癌	6	1	0	1	4		1	0	1	4	
低分化腺癌	18	3	6	5	4		8	3	5	2	
高分化腺癌	9	8	1	0	0		7	1	1	0	
淋巴结转移						0.104					0.113
无	21	7	5	4	5		10	5	4	3	
有	12	4	2	3	3		7	1	4	0	
Dukes' 分期						0.256					0.264
A	4	1	0	2	1		1	2	1	0	
B	9	3	3	1	2		5	1	2	2	
C	12	5	2	3	2		6	3	3	0	
D	8	2	2	2	2		5	1	2	0	

表 5 Caspase3蛋白与Bcl-2蛋白的相关性分析

Bcl-2	Caspase3		r值	P值
	+	-		
+	3	8	-0.320	<0.049
-	14	8		

3 讨论

结肠癌作为发病率、致死率较高的恶性肿瘤之一,其发病机制迄今尚不清楚,腺癌是结肠癌中最常见、发病率最高的良性上皮性肿瘤,其发病率随着年龄增长而逐年增高,且统计数据显示:70%以上的结肠癌来源于腺瘤^[1]。近年来研究发现,在肿瘤的发生发展过程中,细胞凋亡的抑制发挥重要作用^[2-4],因此,探讨结肠癌早期发生的分子机制,观察细胞凋亡基因在本病诊断中的意义及其与临床病理特征的关系,从而为临床寻找早期分子学诊断标志物提供理论根据。

已证实Caspase3一旦被激活,细胞的凋亡将不可避免,其在细胞凋亡过程中发挥着关键作用^[5,6]。已有研究证实:Caspase3在肝癌、胃癌、乳腺癌等不同肿瘤组织中的表达程度及意义存在着较大差异,而在大肠癌中的失表达可能提

示,其参与了大肠癌的发生及去分化过程^[7],同时,亦有学者发现Caspase3的表达下调与恶性肿瘤的浸润、转移等生物学行为特征密切相关,进而推测Caspase3处于已知各种凋亡通路的最下游,多种因素造成癌组织中Caspase3表达减少,从而使癌细胞凋亡降低,进而促进了肿瘤的发生、发展,提示检测Caspase3表达有助于结肠癌的诊断及判断预后^[8,9]。

Bcl-2基因是目前公认的抗凋亡基因,其原癌基因位于18q21,由3个外显子组成,编码Bcl-2α蛋白和Bcl-2β蛋白^[10],由于其具有抑制细胞丢失、阻止细胞凋亡的作用,而被称为“存活基因”。研究证实:Bcl-2的过度表达与多种上皮性肿瘤的发生发展密切相关^[11],其可导致DNA受损的细胞持续生存,从而使得突变产物聚集,发挥促进肿瘤的发生发展的作用^[12,13]。可见,肿瘤恶性程度越高,肿瘤细胞越不容易凋亡,多导致临床预后不良。已有研究显示^[14]:Bcl-2蛋白阳性表达率与浆膜浸润、淋巴结转移有正相关性,提示Bcl-2基因激活与大肠癌分化、转移有关,可作为大肠癌预后的指标之一。

本研究结果可见,在结肠腺癌、腺瘤与正常黏膜中Caspase3蛋白的阳性表达率依次升高。

Bcl-2蛋白在正常结肠黏膜、腺癌、腺瘤中的阳性表达率依次升高. 与正常黏膜相比, Caspase3蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均降低明显, 差异有统计学意义($P<0.05$), Bcl-2蛋白在腺癌、腺瘤中的阳性表达率均升高明显, 差异有统计学意义($P<0.05$), 腺瘤与腺癌两者相比较, 差异无统计学意义($P>0.05$). Caspase3、Bcl-2蛋白阳性表达率均与肿瘤分化程度密切相关($P<0.05$), 且随着肿瘤分化程度的降低, Caspase3、Bcl-2阳性表达率逐渐降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 与其他临床病理特征差异无统计学意义($P>0.05$). 且Caspase3和Bcl-2呈现负相关, 提示Caspase3可作为判断结肠癌组织分化程度的一个指标, 不能作为判断结肠癌临床预后^[15]. Bcl-2可作为判断结肠癌恶性程度的参考指标之一, 可能是通过抑制Caspase3激活抑制细胞凋亡, 延长其生存时间, 增加不稳定性基因, 导致细胞凋亡异常及增生过度, 具体机制有待今后进一步深入研究.

4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.1007/s11010-010-0463-0]
- 2 徐丽丽, 高世勇, 季宇彬. 细胞凋亡相关蛋白的研究进展. 齐齐哈尔医学院学报 2008; 29: 1361-1363
- 3 王小敏, 佟树文, 郑素琴. Caspase家族对大肠癌影响研究进展. 华北煤炭医学院学报 2010; 12: 639-641
- 4 詹建生, 舒晴, 谭永港. Bcl-2与PCNA在大肠锯齿状腺瘤和普通腺瘤的表达及意义. 广东医学 2010; 31: 768-769
- 5 林妙霞, 罗敏琪, 杨峰, 文卓夫, 冯智英. Caspase-3在大肠肿瘤中的表达及其临床病理意义. 中国自然医学杂志 2010; 12: 173-175
- 6 Jindal P, Chopra G, Chaudhary A, Rizvi AA, Sharma JP. Taylor's approach in an ankylosing spondylitis patient posted for percutaneous nephrolithotomy: A challenge for anesthesiologists. *Saudi J Anaesth* 2009; 3: 87-90 [PMID: 20532110 DOI: 10.4103/1658-354X.57879]
- 7 张弦, 陈明净, 陈宣世, 孙兴旺. Survivin和Caspase 3蛋白在大肠黏膜癌变过程中的表达及意义. 海南医学 2009; 20: 1-4
- 8 陈文习, 朱尤庆, 朱润庆, 刘卫容, 蔡丽. pkc- α 、caspase-3在大肠癌中的表达及意义. 数理医药学杂志 2006; 19: 596-598
- 9 马颖, 杨向红, 林连捷, 姜卫国. PTEN和Caspase-3在大肠癌中的表达及临床意义. 中国医科大学学报 2010; 39: 290-292
- 10 李静, 包翠芬. 大肠癌患者P16和Bcl-2基因蛋白对预后的评估价值. 中国临床康复 2005; 9: 140-141.i009
- 11 周桔, 罗荣保, 汤长发, 瞿树林. Bcl-2蛋白家族和p53基因在细胞凋亡中的调控效应. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 1950-1953
- 12 樊勇军, 冯一中, 李海, 郑晓娟. Survivin、caspase-3及AKT1在大肠癌中的表达及意义. 实用癌症杂志 2010; 25: 26-30
- 13 魏茂富, 卢义生, 刘镜文, 刘冠兰, 张彩弟, 康东平. p21、p27和bcl-2在大肠癌、大肠腺瘤及正常大肠黏膜中表达的意义及相关性研究. 病理分析 2009; 16: 22-25
- 14 闫朝霞. 凋亡相关蛋白在大肠癌中的表达及其与凋亡关系的研究. 山西医科大学学报 2010; 41: 199-201
- 15 曾浩然, 刘学勇, 陈德志, 张红欣, 程敏, 张山, 万祖安. Caspase-3基因在大肠癌、大肠腺瘤中的表达及其与细胞凋亡的关系. 中国厂矿医学 2008; 21: 515-517

■同行评价

本文方法学及数据结果可信, 逻辑性强, 具有一定可读性.

编辑 田滢 电编 闫晋利



细胞因子IL-5、IL-6与广西肝癌家族聚集性的相关性

唐自珍, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦

■背景资料

广西是全国肝癌的高发区之一, 有明显的肝癌家族聚集现象, 目前肝癌家庭聚集现象原因考虑与乙型肝炎、遗传因素、环境因素等有关。肝癌前的免疫状态与肝癌的发生及家族聚集性关系尚不清楚。

唐自珍, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮自
治区南宁市 530021

唐自珍, 硕士, 主要从事肝脏疾病的发病机制及诊疗方面的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 30960170

广西卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重:
200924

作者贡献分布: 本课题由吴继周与唐自珍共同设计; 研究过程和
数据分析由唐自珍、吴健林、韦颖华及张鹭操作完成; 研究标
本由宁秋悦、胡蝶飞及万裴琦协助提供; 论文写作由唐自珍、
吴继周及吴健林共同完成; 由吴继周负责审核。

通讯作者: 吴继周, 教授, 530021, 广西壮自自治区南宁市青
秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。
wjz925@163.com

收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-26

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

Relationship between serum levels of IL-5 and IL-6 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi

Zi-Zhen Tang, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu,
Ying-Hua Wei, Lu Zhang, Qiu-Yue Ning, Die-Fei Hu,
Pei-Qi Wan

Zi-Zhen Tang, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Ying-Hua Wei,
Lu Zhang, Qiu-Yue Ning, Die-Fei Hu, Pei-Qi Wan, De-
partment of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital
of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi
Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of
China, No. 30960170; and the Key Projection of Depart-
ment of Health of Guangxi, No. GWZ 200924

Correspondence to: Ji-Zhou Wu, Professor, Department
of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of
Guangxi Medical University, Shuangyong Road, Qingxiu
District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous
Region, China. wjz925@163.com

Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-26

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between serum levels of interleukin-5 (IL-5) and IL-6 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma (HCC) in Guangxi, China.

METHODS: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for quantitative detection of serum levels of IL-5 and IL-6 in

101 pairs of carcinoma-free members from HCC high-incidence families and those from carcinoma-free families. The two groups were matched for gender, age, same nation, habits and customs, living environment and HBV infection.

RESULTS: Serum IL-5 levels in carcinoma-free members from HCC high-incidence families were significantly higher than those from carcinoma-free families ($Z = -3.315$, $P = 0.001$). There was no statistically significant difference in serum IL-6 levels between the two groups of subjects ($Z = -0.588$, $P = 0.557$).

CONCLUSION: Serum levels of IL-5 may be associated with the incidence of familial aggregation of HCC in Guangxi. IL-6 is not significantly correlated with the familial aggregation of HCC in Guangxi.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cytokines IL-5, IL-6; Familial aggregation of HCC

Tang ZZ, Wu JZ, Wu JL, Wei YH, Zhang L, Ning QY, Hu DF, Wan PQ. Relationship between serum levels of IL-5 and IL-6 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3286-3290 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3286>

摘要

目的: 探讨血清中白介素5(interleukin-5, IL-5)、IL-6水平与广西肝癌家族聚集性的相关性。

方法: 应用酶联免疫吸附法定量检测广西肝癌高发区101对经配对设计的肝癌高发家族中无癌成员和无癌家族成员血清中IL-5、IL-6含量。

结果: 肝癌高发家族中无癌成员血清IL-5水平显著高于无癌家族成员($Z = -3.315$, $P = 0.001$),

■同行评议者
庄林, 主任医师,
昆明市第三人民
医院肝病科

肝癌高发家族中无癌成员血清IL-6水平与无癌家族成员差异无统计学意义($Z = -0.588, P = 0.557$).

结论: IL-5与广西肝癌家族聚集性发病存在一定相关性, 推测肝癌高发家族中无癌成员其免疫系统已发生微弱变化. IL-6可能在广西肝癌家族聚集性无明显关系.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 细胞因子白介素-5、白介素-6; 肝癌家族聚集

核心提示: 细胞因子白介素5(interleukin-5, IL-5)与广西肝癌家族聚集性发病存在一定相关性, 推测肝癌家族中未患癌成员其免疫系统已发生微弱变化. 细胞因子IL-6可能在广西肝癌家族聚集性无明显关系.

唐自珍, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦. 细胞因子IL-5、IL-6与广西肝癌家族聚集性的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3286-3290 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3286>

0 引言

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其中广西为高发区之一. 引起肝癌的危险因素常见为病毒性肝炎、肝硬化、黄曲霉素、饮用水污染、遗传等有关,

同时常见家族聚集现象, 在肝癌病例中发生2例以上肝癌的家庭从33.9%上升到63.6%^[1]. 我们发现在广西存在着非常明显的肝癌家庭聚集现象, 目前对肝癌家庭聚集现象原因考虑与乙型肝炎、遗传因素、环境因素等有关^[2], 而肝癌高发家族中无癌成员免疫状态、细胞因子是否已发生改变, 迄今尚不清楚, 为此对广西肝癌高发家族中无癌家族成员与无癌家族成员血清白介素5(interleukin-5, IL-5)、IL-6水平进行检测, 并探讨其在肝癌家族聚集性中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究选择广西肝癌高发区内, 以相同性别、年龄 ± 5 岁、相同民族、相同生活习惯、相同生活环境、相同HBV感染为配对条件, 以肝癌高发家族成员及无癌家族成员各101例作为研究对象, 其中肝癌高发家族成员均为

无癌成员. 其中男66对、女35对, 壮族82对, 瑶族13对, 汉族6对, HBsAg阳性26对, HBsAg阴性75对, 研究对象中均无HCV抗体阳性成员. 肝癌高发家族成员与无癌家族成员的年龄、性别、肝功能、乙型肝炎DNA病毒情况比较, 均无统计学意义. 且两组成员之间无血缘关系, 经济状况相似. 肝癌高发家族成员指在有血缘的直系亲属成员中, 至少发生2例的原发性肝癌(HCC诊断按照第四届全国肝病学术会议修订的肝癌诊断标准)患者的家族成员. 无癌家族成员指有血缘的直系家属中未出现过任何恶性肿瘤的家族成员. Mark酶标仪、洗板机、电热恒温培养箱、离心机、可调节移液器、量筒、多道移液枪等.

1.2 方法

1.2.1 血清标本采集、处理: 采取研究对象空腹外周血10 mL, 静置2 h后4500 r/min离心10 min分离血清, 冰浴分装后放-80 °C冰箱保存待测.

1.2.2 实验: 采用酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测IL-5、IL-6水平, ELISA IL-5、IL-6试剂盒由武汉华美生物技术有限公司提供. 严格按照说明书操作, 在美国Thermo Electron Corporation的Multiskan MK3酶标仪上检测A值, 经Curve Expert软件分析测得样本水平.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析, 因检测肝癌高发家族成员与无癌家族成员IL-5及IL-6水平差值均经正态检验为偏态分布, 采用配对设计秩和检验. 各项指标均以P50(P25, P75)表示.

2 结果

肝癌高发家族成员中IL-5水平高于无癌家族成员, 差异具有统计学意义. 肝癌高发家族成员中男性成员的IL-5水平高于无癌家族男性成员, 女性成员相比较无统计学差异, 肝癌高发家族中壮族成员IL-5水平高于无癌家族中壮族成员. HBsAg阴性的肝癌高发家族成员的IL-5水平高于无癌家族成员, HBsAg阳性的肝癌高发成员与无癌家族成员无明显统计学差异. IL-6在肝癌高发家族成员与无癌家族成员中无明显变化, 在其性别、壮族、汉族、HBsAg阳性及HBsAg阴性中均无明显变化, 无统计学差异(表1, 2).

3 讨论

广西是全国肝癌高发区之一, 在广西进行的流

■研发前沿
肝癌高发聚集人群免疫状态、基因与肝癌发生及家族聚集相关性是目前研究的热点之一.

■相关报道
张鹭等研究发现广西肝癌高发家族HCC患者存在Th1/Th2平衡失调, 向Th2方向漂移.

■创新盘点

目前研究对象多集中在肝癌患者, 本文将肝癌家族中无癌成员为对象, 研究细胞因子白介素5(interleukin-5, IL-5)、IL-6与广西肝癌家族聚集性的相关性。

表 1 肝癌高发家族与无癌家族IL-5、IL-6水平分析 ($n = 101$, pg/mL)

	高发家族成员	正常家族成员	Z值	P值
IL-5	4.688(2.506, 7.491)	2.855(1.477, 5.610)	-3.315	0.001
IL-6	8.304(13.752, 4.891)	9.054(5.671, 13.344)	-0.588	0.557

IL: 白介素。

表 2 不同特征的研究对象IL-5、IL-6水平分析 (pg/mL)

	<i>n</i>	IL-5				IL-6			
		高发家族 P50(P25, P75)	正常家族 P50(P25, P75)	Z值	P值	高发家族 P50(P25, P75)	正常家族 P50(P25, P75)	Z值	P值
性别									
男	66	5.559 (2.60, 9.1652)	2.769 (1.360, 5.85)	-3.357	0.001	7.616 (4.914, 13.752)	8.816 (4.760, 13.805)	-0.585	0.559
女	35	3.771 (2.391, 5.899)	2.925 (1.543, 5.30)	-0.999	0.138	8.353 (4.885, 14.488)	10.046 (6.884, 12.714)	-0.115	0.909
民族									
壮族	82	4.736 (2.555, 7.415)	2.931 (1.569, 5.529)	-3.294	0.001	7.765 (4.616, 12.759)	8.569 (5.141, 12.104)	-0.146	0.884
瑶族	13	4.544 (2.260, 8.231)	4.172 (1.322, 8.170)	-0.105	0.917	13.261 (8.598, 29.079)	10.663 (6.712, 14.709)	-2.271	0.023
汉族	6	3.213 (5.250, 7.405)	0.972 (1.923, 2.925)	-2.201	0.028	6.956 (4.484, 21.110)	14.281 (12.730, 26.849)	-0.943	0.345
HBsAg阳性	26	4.865 (2.607, 6.976)	2.600 (2.049, 7.523)	-1.562	0.118	9.909 (4.484, 11.789)	9.711 (6.288, 14.709)	-0.629	0.534
HBsAg阴性	75	4.544 (2.482, 7.525)	2.925 (1.330, 5.513)	-2.931	0.003	7.669 (4.902, 13.915)	8.693 (5.284, 12.693)	-0.354	0.723

IL: 白介素。

行病学研究中发现肝癌发病具有明显的家族聚集倾向, 其肝癌发生前的免疫状态和肝癌的发生及家族聚集性关系尚在研究中。IL-5、IL-6是一组具有多种生物学功能的细胞因子, 在免疫系统及维持机体生理平衡上有非常重要的作用, 因其分泌或基因表达异常往往导致或促进疾病的发生。IL-5主要来源于Th2细胞, 可促进B细胞分化与生长及分泌抗体, 主要增强TH2细胞介导的体液免疫应答, 同时在肿瘤晚期诱导嗜酸性粒细胞分化促进肿瘤生长^[3]。机体的抗肿瘤作用主要是以Th1介导的细胞免疫为主, 若发生Th1向Th2漂移, 造成免疫抑制状态, 机体的抗肿瘤免疫将受到严重干扰, 发生免疫逃逸, 促进癌症的发生发展^[4-5]。张鹭等^[6]研究发现在肝癌高发家族HCC患者同样存在Th1/Th2平衡失调, Th2相对占优势。本研究示肝癌高发家族中无癌家族成员IL-5水平高于无癌家族水平, 差异具有统计学意义, 提示肝癌

家族成员中的无癌家族成员中IL-5水平已发生变化, 推测肝癌高发家族中无癌成员其免疫系统已发生微弱变化, 只是变化不显著, Th1与Th2型细胞间的平衡在癌变前已打破, Th2已稍占优势。其原因可能与遗传因素等有关^[7], 需进一步研究证实。

研究中还发现IL-5水平增高以男性、壮族为主。这符合男性HCC发病风险高于女性, 提示肝癌高发家族中男性成员的部分细胞因子变化相对明显, 并以Th2型细胞相对占优势。因广西壮族人群发生肝癌几率比汉族高, 并有明显的家族聚集现象^[8], 相应下肝癌高发家族IL-5水平增高, 可能与种族、家族遗传等有关, 也不排除标本例数中壮族例数占多数可能, 需进一步研究探讨。汉族及瑶族肝癌高发家族成员IL-5水平虽高于无癌家族成员, 但其例数较少, 可暂不考虑其变化。另外, HBsAg阴性的高发家族成员IL-5水平明显增高, 有统计学意义, 提示未感染

乙型肝炎成员机体的Th1/Th2型细胞平衡已失调. 在肝细胞癌患者中大概有75%和HBV慢性感染相关^[9], 而TH2型细胞的优势应答是HBV慢性感染的原因之一^[10], 两个家族HBsAg阳性成员水平无明显统计学差异, HBsAg阳性成员IL-5水平相对高于HBsAg阴性成员, 但未检验是否有统计学差异, 提示两组HBV慢性感染者机体均产生及调节各类细胞因子参与肝损伤过程, 这与Tilg等^[11]报道相符, 但究竟是机体免疫功能异常导致乙型肝炎还是感染HBV后出现机体免疫功能紊乱, 目前尚未清楚.

IL-6主要由Th2细胞、单核巨噬细胞、血管内皮细胞产生. 其作用于肝细胞及B淋巴细胞, 刺激肝细胞合成纤维蛋白原等血清蛋白. 在脂肪肝、慢性乙型肝炎、肝细胞肝癌的发生及发展中有一定的相关性^[12-14], 尤其与HCC有着密切的关系. 有关报道已证明肝癌患者中血清IL-6水平明显升高, 可能是由于肝癌患者肝内枯否细胞及成纤维细胞增生活跃、大量单核巨噬细胞浸润或癌细胞自身产生大量IL-6, 而肝脏失代偿, 清除IL-6障碍所致^[15], 在但IL-6在HCC中作用尚不清楚, 有学者认为IL-6通过干扰转化生长因子 β 的信号促进肝癌细胞增殖、存活, 并最终促进肝癌的形成, 在HCC的发生、发展中有重要促进作用^[16,17], 但又有学者报道IL-6对肝癌细胞的增殖有明显的抑制作用^[18]. 本研究提示肝癌高发家族成员与无癌家族成员IL-6水平, 在整个研究对象、性别、民族、HBsAg阳性者、HBsAg阴性者均无明显变化, 统计学无明显意义. 瑶族肝癌高发家族成员IL-6水平与无癌家族有差异, 但因本实验研究样本较少, 需扩大样本量进一步证明. 因此推测IL-6可能与广西肝癌家族聚集性无明显相关性, IL-6水平升高是在肝细胞癌变过程中逐渐形成的.

4 参考文献

- 1 吴继周, 李国坚, 陈务卿, 臧宁, 吴健林, 玉艳红, 陈茂伟, 韦颖华, 万裴琦, 胡蝶飞, 宁秋悦, 贺荣. 广西新发现肝癌高发点的初步流行病学研究. 内科 2009; 4: 678-680
- 2 肖开银, 黎乐群, 彭民浩, 杨定华, 梁水庭, 覃晓, 陈希刚, 郭雅, 覃忠, 彭涛, 陈滨, 苏智雄, 尚丽明. 家族聚集性肝癌101例家族史和临床分析. 广西医科大学学报 2005; 22: 224-226
- 3 Ikutani M, Yanagibashi T, Ogasawara M, Tsuneyama K, Yamamoto S, Hattori Y, Kouro T, Itakura A, Nagai Y, Takaki S, Takatsu K. Identification of innate IL-5-producing cells and their role in lung eosinophil regulation and antitumor immunity. *J Immunol* 2012; 188: 703-713 [PMID: 22174445 DOI: 10.4049/jimmunol.1101270]
- 4 Budhu A, Wang XW. The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. *J Leukoc Biol* 2006; 80: 1197-1213 [PMID: 16946019 DOI: 10.1189/jlb.0506297]
- 5 Chen L, Zhang Q, Chang W, Du Y, Zhang H, Cao G. Viral and host inflammation-related factors that can predict the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2012; 48: 1977-1987 [PMID: 22325840 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.01.015]
- 6 张鹭, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈茂伟, 陈务卿, 韦颖华, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. TH1/TH2细胞相关因子对肝癌家族聚集性的影响研究. 中华微生物和免疫学杂志 2012; 32: 1000-1004
- 7 Zhang Z, Zhang JY, Wherry EJ, Jin B, Xu B, Zou ZS, Zhang SY, Li BS, Wang HF, Wu H, Lau GK, Fu YX, Wang FS. Dynamic programmed death 1 expression by virus-specific CD8 T cells correlates with the outcome of acute hepatitis B. *Gastroenterology* 2008; 134: 1938-1949, 1949.e1-e3 [PMID: 18455515 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.037]
- 8 涂燕云, 陈枝俏, 许剑. 广西原发性肝癌流行和临床特点分析. 广西中医学院, 2006: 201-203
- 9 Han YF, Zhao J, Ma LY, Yin JH, Chang WJ, Zhang HW, Cao GW. Factors predicting occurrence and prognosis of hepatitis-B-virus-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4258-4270 [PMID: 22090781 DOI: 10.3748/wjg.v17.i38.4258]
- 10 夏妍, 张淑云. CD4 T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21: 498-507
- 11 Tilg H, Kaser A, Moschen AR. How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases. *Liver Int* 2006; 26: 1029-1039 [PMID: 17032402 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01339.x]
- 12 Kao JT, Lai HC, Tsai SM, Lin PC, Chuang PH, Yu CJ, Cheng KS, Su WP, Hsu PN, Peng CY, Wu YY. Rather than interleukin-27, interleukin-6 expresses positive correlation with liver severity in naïve hepatitis B infection patients. *Liver Int* 2012; 32: 928-936 [PMID: 22230324 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02742.x]
- 13 谢伶俐, 周力, 李丽滨, 陈晓琴, 张永宏, 杨杰. TNF- α 和IL-6在非酒精性脂肪性肝病患者血清中的水平及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1492-1496
- 14 Jang JW, Oh BS, Kwon JH, You CR, Chung KW, Kay CS, Jung HS. Serum interleukin-6 and C-reactive protein as a prognostic indicator in hepatocellular carcinoma. *Cytokine* 2012; 60: 686-693 [PMID: 22906998 DOI: 10.1016/j.cyto.2012.07.017]
- 15 赵彩彦, 周俊英, 张素环, 冯忠军. 原发性肝癌患者血清IL-6, IL-2与Sil-2R的变化. 世界华人消化杂志 2000; 8: 105-106
- 16 Wong VW, Yu J, Cheng AS, Wong GL, Chan HY, Chu ES, Ng EK, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. High serum interleukin-6 level predicts future hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis B. *Int J Cancer* 2009; 124: 2766-2770 [PMID: 19267406 DOI: 10.1002/ijc.24281]
- 17 Tang Y, Kitisin K, Jogunoori W, Li C, Deng CX, Mueller SC, Ransom HW, Rashid A, He AR, Mendelson JS, Jessup JM, Shetty K, Zasloff M, Mishra B,

■应用要点

本研究通过ELISA检测肝癌高发家族中无癌成员IL-5、IL-6水平, 进一步探讨细胞因子在肝癌发生及家族聚集性中作用.

■同行评价

本文探讨了IL-5、IL-6与广西肝癌家族聚集性发病的相关性,能较好地反映我国广西壮族这种特定地区、特定民族的肝癌方面的临床和基础研究的先进水平,有一定创新性及临床意义。

Reddy EP, Johnson L, Mishra L. Progenitor/stem cells give rise to liver cancer due to aberrant TGF-beta and IL-6 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2445-2450 [PMID: 18263735 DOI: 10.1073/pnas.0705395105]

18 Moran DM, Mayes N, Koniaris LG, Cahill PA, McKillop IH. Interleukin-6 inhibits cell proliferation in a rat model of hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2005; 25: 445-457 [PMID: 15780071 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01083.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊,并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前,我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录,全文免费向公众开放,见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任:程剑侠 2009-03-26)

CT引导下经皮穿刺引流与直接开腹术引流治疗胰腺坏死组织感染的疗效

周祥慧, 陈欧, 罗彬, 古今, 邱雄, 邵泽勇

周祥慧, 陈欧, 罗彬, 古今, 邱雄, 邵泽勇, 四川省雅安市人民医院, 四川省雅安市 625000

周祥慧, 副主任医师, 主要从事肝胆胰疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由周祥慧、陈欧、罗彬及古今共同完成; 选题和审校由邱雄与邵泽勇共同完成。

通讯作者: 陈欧, 主治医师, 625000, 四川省雅安市雨城区城后路358号, 雅安市人民医院消化内科. 1027580516@qq.com

电话: 0835-2862545

收稿日期: 2013-09-01 修回日期: 2013-09-11

接受日期: 2013-09-18 在线出版日期: 2013-10-28

Clinical effect of CT-guided percutaneous catheter drainage versus laparotomy in treatment of infective pancreatic necrosis

Xiang-Hui Zhou, Ou Chen, Bin Luo, Jin Gu, Xiong Qiu, Ze-Yong Shao

Xiang-Hui Zhou, Ou Chen, Bin Luo, Jin Gu, Xiong Qiu, Ze-Yong Shao, Ya'an People's Hospital, Ya'an 625000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ou Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Ya'an People's Hospital, 358 Chenghou Road, Ya'an 625000, Sichuan Province, China. 1027580516@qq.com

Received: 2013-09-01 Revised: 2013-09-11

Accepted: 2013-09-18 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To compare the clinical effect of CT-guided percutaneous catheter drainage versus laparotomy in the management of infective pancreatic necrosis.

METHODS: Clinical data for 45 SAP patients with infective pancreatic necrosis who were treated from January 2009 to December 2012 were analyzed retrospectively. These patients were divided into two groups based on the treatment choice. Twenty-one patients in the percutaneous drainage group underwent CT-guided percutaneous catheter drainage, and the efficacy was evaluated after 3 d. If no improvement was achieved, they would receive laparotomy. Twenty-four patients in the laparotomy group received surgical drainage when the diagnosis

of infective pancreatic necrosis was confirmed.

RESULTS: Approximately 42.3% of patients in the percutaneous drainage group did not require laparotomy. The percutaneous drainage group had a significantly higher success rate of first laparotomy (91.7% vs 66.7%, $P < 0.05$), significantly lower rates of postoperative residual abscess (8.3% vs 33.3%, $P < 0.05$) and new organ dysfunction (9.5% vs 37.5%, $P < 0.05$), shorter hospital duration (46.71 d \pm 10.96 d vs 55.93 d \pm 11.54 d, $P < 0.05$) and less expenditure (181872 yuan \pm 42011 yuan vs 2510000 yuan \pm 57365 yuan, $P < 0.05$).

CONCLUSION: CT-guided percutaneous catheter drainage can effectively reduce the use of laparotomy, improve the success rate of first laparotomy, and decrease the rate of postoperative residual abscess and new organ dysfunction as well as the cost of medical resources.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: CT-guided; Percutaneous catheter drainage; Laparotomy; Infective pancreatic necrosis

Zhou XH, Chen O, Luo B, Gu J, Qiu X, Shao ZY. Clinical effect of CT-guided percutaneous catheter drainage versus laparotomy in treatment of infective pancreatic necrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3291-3295 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3291.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3291>

摘要

目的: 观察CT引导下经皮穿刺置管引流与直接开腹手术引流治疗重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)合并胰腺坏死组织感染的疗效。

方法: 回顾性分析2009-01/2012-12四川省雅安市人民医院收治的SAP合并胰腺坏死组织感染患者45例的临床资料; 根据首先采取的治疗方法的不同, 将患者分为CT引导下经皮穿刺置管引流组与直接开腹手术引流组, 其中经

■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)胰腺坏死组织感染是患者死亡的主要原因, 开腹手术引流是过去公认的治疗胰腺坏死组织感染的主要方式, 随着当今微创技术的迅速发展, CT引导下经皮穿刺引流已应用于治疗胰腺坏死组织感染。

■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

■研发前沿

随着微创技术的发展,及“损伤控制外科”理念的深入人心,微创技术用于清除感染的胰腺坏死组织以达到治疗目的已是大势所趋。

皮穿刺引流组21例,直接开腹手术引流组24例。CT引导下经皮穿刺置管引流,冲洗3 d后评价引流效果,无明显好转则中转开腹引流手术;直接开腹手术引流组在确诊感染后直接开腹引流。

结果: CT引导下经皮穿刺引流组与直接开腹手术引流组比较,避免开腹手术引流率(42.3% vs 0)、一次开腹手术成功率(91.7% vs 66.7%, $P<0.05$)、术后残余脓肿发生率(8.3% vs 33.3%, $P<0.05$)及新发脏器功能障碍率(9.5% vs 37.5%, $P<0.05$)均有明显差异,差异有统计学意义;而两组患者住院时间(46.71 ± 10.96 d vs 55.93 ± 11.54 d, $P<0.05$)和住院费用(181872 ± 42011 元 vs 2510000 ± 57365 元, $P<0.05$)相比,差异有统计学意义。

结论: CT引导下经皮穿刺引流能有效降低开腹手术率,增加一次开腹手术成功率,能降低术后残余脓肿及新发脏器功能障碍的发生率;同时能减少患者住院时间和住院费用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: CT引导; 经皮穿刺引流; 开腹术引流; 胰腺坏死组织感染

核心提示: CT引导下经皮穿刺置管引流有损伤小、并发症发生率低,以及治疗费用低,住院时间短的优势,既减轻了患者的痛苦,又减少了患者的费用负担,有着良好的治疗前景。

周祥慧, 陈欧, 罗彬, 古今, 邱雄, 邵泽勇. CT引导下经皮穿刺引流与直接开腹手术引流治疗胰腺坏死组织感染的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3291-3295 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3291.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3291>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)发病急,进展快,病情凶险,预后不良,病死率高达36%-50%,起病后2-3 wk出现的胰腺坏死组织感染是SAP患者死亡的主要原因^[1-3]。开腹手术引流是过去公认的治疗胰腺坏死组织感染的主要方式^[4],随着当今微创技术的迅速发展^[5,6],CT引导下经皮穿刺引流已应用于治疗胰腺坏死组织感染,但研究数量有限^[7,8]。本文回顾性的分析了2009-01/2012-12四川省雅安市人民医院治疗的胰腺坏死组织感染患者的临床资料,总结CT引导下经皮穿刺引流治疗胰腺坏死组织感染的经验,同时比较其与直接开腹手术引流之间的差异。

1 材料与方法

1.1 材料 收集2009-01/2012-12四川省雅安市人民医院治疗的胰腺坏死组织感染患者45例的临床资料,根据首先采取的治疗方法的不同,将患者分为CT引导下经皮穿刺置管引流组和直接开腹手术引流组,经皮穿刺置管引流组21例,直接开腹手术引流组24例。其中男27例,女18例;平均年龄50岁(21-76岁);经皮穿刺置管引流组病因包括11例胆源性,8例高甘油三酯血症,2例酒精性,平均年龄48.6(21-69岁)。直接开腹手术引流组24例,包括14例胆源性,8例高甘油三酯血症,1例酒精性,1例其他,平均年龄50.1岁(26-76岁)。所有患者均经增强CT和胰腺坏死组织培养确诊,符合中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组制定的诊治标准^[9]。

1.2 方法 所有患者术前需进行血常规、出凝血时间、血小板计数检查,有凝血障碍的患者在进行CT引导穿刺引流治疗前先给予纠正。

1.2.1 CT引导下经皮穿刺置管引流组: 先行常规CT扫描,必要时行增强CT,了解病变内部情况及周围血管、重要脏器结构关系,选择最佳穿刺层面及穿刺进针点。穿刺进入坏死的胰腺组织后,置入导丝后沿导丝用扩张器逐步扩张窦道,对于多处或分隔的坏死组织,置入多个引流管。置管成功后尽可能多的冲洗出固体状的坏死组织,并进行细菌培养,每4-8 h时用无菌生理盐水冲洗胰腺坏死组织。3 d后对穿刺引流管引流效果进行评判,从临床、CT、生化检查结果3个方面进行引流效果评价,若引流管通畅,全身和局部症状持续存在、临床状况恶化、生化指标无明显改善,则转为开腹引流手术进行治疗。

1.2.2 直接开腹手术引流组: 患者在确诊胰腺坏死组织感染后,进行充分术前准备,直接开腹手术引流,手术中尽可能减少再次创伤,主要采用胰腺被膜切开减压,充分松解胰床,清除坏死胰腺组织,生理盐水反复冲洗腹腔酶性渗出液,在胰床周围、后腹膜、盆腔安置多个引流管,均为双导管。术后持续生理盐水灌注引流以继续稀释引流胰腺渗出物,减少对腹腔内脏的损害及毒素的回吸收。对胆源性胰腺炎做胆囊切除或/和胆总管探查取石, T管引流。

统计学处理 SPSS17.0统计学软件进行分析,结果中的计量指标以mean±SD表示,计数指标以百分数表示;对符合正态分布的数据比较采用方差分析,两组独立均数比较用成组t检验,两组率的比较用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

■相关报道

相关报道认为经皮穿刺导管引流术可有效控制感染,降低开腹手术成功率,并可增加开腹手术的成功率,起到择期手术的桥梁作用。

表 1 两组重症急性胰腺炎胰腺坏死组织感染患者经不同手术治疗后结果的比较 (%)

分组	避免开腹手术引流率	开腹手术1次成功率	术后残余脓肿率	新发脏器功能障碍率	死亡率
经皮穿刺置管引流组	42.3	91.7	8.3	9.5	9.5
直接开腹手术置管引流	0	66.7	33.3	37.5	16.7
P值	0.000	0.033	0.023	0.04	0.670

表 2 两组患者住院时间和住院费用的比较 (mean ± SD)

	住院时间(d)	住院费用(元)
经皮穿刺置管引流	46.71 ± 10.96	181872 ± 42011
直接开腹手术置管引流	55.93 ± 11.54	2510000 ± 57365
P值	0.011	0.000

■创新盘点

本文总结CT引导下经皮穿刺引流治疗胰腺坏死组织感染的经验, 同时比较其与直接开腹手术引流之间的差异, 以此评估CT引导下经皮穿刺引流治疗的优势及临床应用价值。

2 结果

CT引导下经皮穿刺引流组的避免开腹手术引流率、一次开腹手术成功率均明显高于直接开腹手术引流组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); CT引导下经皮穿刺引流组的术后残余脓肿发生率及新发脏器功能障碍率均明显低于直接开腹手术引流组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者死亡率相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1); 两组患者住院时间($46.71 \text{ d} \pm 10.96 \text{ d}$ vs $55.93 \text{ d} \pm 11.54 \text{ d}$, $P < 0.05$)和住院费用($181872 \text{ 元} \pm 42011 \text{ 元}$ vs $2510000 \text{ 元} \pm 57365 \text{ 元}$, $P < 0.05$)相比, 差异有统计学意义(表2)。

3 讨论

本研究比较了我院近4年来对于SAP胰腺坏死组织感染所采取的两种不同的治疗方式, CT引导下经皮穿刺置管引流治疗与直接开腹手术引流治疗的效果, 结果发现, 与直接开腹手术引流组比较, CT引导下经皮穿刺置管引流组降低了开腹手术引流率, 增加了一次开腹手术的成功率, 并降低了术后残余脓肿的发生率, 同时降低了新发脏器功能障碍的发生率。CT引导下经皮穿刺置管引流组有着更低的平均住院费用和更短的平均住院时间, 这与国外报道的文献结果一致^[10,11]。

CT引导下经皮穿刺引流治疗是替代开腹引流手术治疗胰腺组织坏死感染的有效手段^[7,12,13]。吕益忠等^[14]纳入经临床及影像学证实的急性坏死性胰腺炎合并感染的患者26例, 在CT引导下经皮穿刺置管引流治疗, 发现12例患者(46%)行CT引导下经皮穿刺置管引流术治愈, 9例好转, 表现为感染症状得到控制, 发热减退, 白细

胞恢复正常; 5例无效, 患者穿刺引流后临床症状无明显改善而行外科坏死物切除术。认为CT引导下经皮穿刺置管引流术微创、靶向精确, 并可有效控制感染(80.7%), 是治疗急性坏死性胰腺炎合并感染的有效和安全方法。本研究发现CT引导下经皮穿刺引流能够有效引流液化的坏死组织, 降低坏死组织的压力, 减少细菌毒素的吸收, 减轻全身炎症反应的发生, 稳定并控制病情, 使9例患者(42.3%)避免直接开腹手术。

SAP患者合并胰腺坏死组织感染病情危重, 早期开腹手术创伤大, 并发症发生率及死亡率高^[15-17], Freeny等^[12]研究纳入34例接受穿刺引流治疗的感染性坏死的急性坏死性胰腺炎患者, 发现47%的患者不需要手术治疗得到治愈; 74%的患者的脓毒血症得到了有效地控制, 起了择期外科手术的桥梁作用。Mier等^[18]进行了前瞻性随机对照研究比较重症坏死性胰腺炎患者早期和晚期行坏死组织清除术的疗效, 其中有41例患者在疾病发作后48-72 h、41例在12 d后进行了手术治疗, 早期手术治疗死亡率为58%而晚期手术治疗死亡率只有27%。Rodriguez等^[19]的研究确认了这些发现, 他们在纳入了167例患者的研究中发现疾病发作28 d后手术治疗的患者有更好的预后, 其死亡率在5.1%, 而早期手术治疗死亡率在20.3%。由于感染的胰腺坏死组织内有较多的固体状坏死组织, 易堵塞导管, 且坏死组织会形成多个小脓腔, 这些因素都在一定程度上影响了引流的效果, 因此单纯采用经皮穿刺引流有时难以完全彻底地清除坏死组织, 可以在穿刺引流术后, 病情稳定的情况下进行开腹手术引流; 本研究中12例患者经穿刺引流后行开腹引流手术, 11例患者成功行一次开腹手术, 成

■应用要点

CT引导下经皮穿刺引流遵循“损伤控制”的理念,避免开腹手术对已合并MODS、消化系瘘等并发症的患者造成严重的二次打击,有着良好的治疗前景,SAP可优先采取非手术治疗和微创治疗。

功率为91.7%,穿刺引流手术可以增加一次开腹手术的成功率。

本研究中CT引导下经皮穿刺置管引流组的术后脓肿残余率(8.3%)及新发脏器功能障碍率(9.5%)明显低于直接开腹手术引流组的33.3%及37.5%;而两组的住院费用(181872元±42011元,2510000元±57365元)和住院时间(46.71 d±10.96d,55.93 d±11.54 d)相比,CT引导下经皮穿刺置管引流组明显低于直接开腹手术引流组;而两组患者死亡率差异不具有统计学意义,这可能与所纳入研究的病例较少有关系,同时与我们对重症患者的重要脏器功能维护的水平有一定关系;CT图像解剖定位清晰直观,对胰腺坏死的诊断率高,与B超相比,能准确定位进入路线、置管深度,可有效避开血管、结肠、小肠等结构。采用CT引导下穿刺引流治疗胰腺感染坏死效果较好,可单独或配合其他的综合治疗措施达到治愈的目的,可以延长需要手术介入的时间,增加开腹手术引流的成功率,避免全身炎症反应期对机体的进一步干扰;与外科手术引流治疗相比,CT引导下经皮穿刺置管引流有损伤小、并发症发生率低、术后残余脓肿发生率低,以及治疗费用低,住院时间短的优势,既减轻了患者的痛苦,又减少了患者的费用负担。因此,我们认为随着微创外科理念的深入人心,CT引导下经皮穿刺引流治疗SAP合并胰腺坏死组织感染有着良好的治疗前景,随着治疗手段的逐渐成熟,将会在临床上应用越来越广泛,给患者带来更多的益处。

4 参考文献

- 1 Vege SS, Gardner TB, Chari ST, Munukuti P, Pearson RK, Clain JE, Petersen BT, Baron TH, Farnell MB, Sarr MG. Low mortality and high morbidity in severe acute pancreatitis without organ failure: a case for revising the Atlanta classification to include "moderately severe acute pancreatitis". *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 710-715 [PMID: 19262525 DOI: 10.1038/ajg.2008.77]
- 2 Pandol SJ, Saluja AK, Imrie CW, Banks PA. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology* 2007; 132: 1127-1151 [PMID: 17383433 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.055]
- 3 Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400 [PMID: 17032204 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00856.x]
- 4 Traverso LW, Kozarek RA. Pancreatic necrosectomy: definitions and technique. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 436-439 [PMID: 15749608 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.05.013]
- 5 Friedland S, Kaltenbach T, Sugimoto M, Soetikno R. Endoscopic necrosectomy of organized pancreatic necrosis: a currently practiced NOTES procedure. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 266-269 [PMID: 19350193 DOI: 10.1007/s00534-009-0088-4]
- 6 Bruennler T, Langgartner J, Lang S, Zorger N, Herold T, Salzberger B, Feuerbach S, Schoelmerich J, Hamer OW. Percutaneous necrosectomy in patients with acute, necrotizing pancreatitis. *Eur Radiol* 2008; 18: 1604-1610 [PMID: 18357453 DOI: 10.1007/s00330-008-0928-7]
- 7 Mortelé KJ, Girshman J, Szejnfeld D, Ashley SW, Erturk SM, Banks PA, Silverman SG. CT-guided percutaneous catheter drainage of acute necrotizing pancreatitis: clinical experience and observations in patients with sterile and infected necrosis. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 110-116 [PMID: 19098188 DOI: 10.2214/AJR.08.1116]
- 8 Navalho M, Pires F, Duarte A, Gonçalves A, Alexandrino P, Távora I. Percutaneous drainage of infected pancreatic fluid collections in critically ill patients: correlation with C-reactive protein values. *Clin Imaging* 2006; 30: 114-119 [PMID: 16500542 DOI: 10.1016/j.clinimag.2005.09.026]
- 9 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013年, 上海). 中华消化杂志 2013; 33: 217-222
- 10 Raraty MG, Halloran CM, Dodd S, Ghaneh P, Connor S, Evans J, Sutton R, Neoptolemos JP. Minimal access retroperitoneal pancreatic necrosectomy: improvement in morbidity and mortality with a less invasive approach. *Ann Surg* 2010; 251: 787-793 [PMID: 20395850 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181d96c53]
- 11 Steinberg WM. A step-up approach, or open necrosectomy for necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 1286-1287; author reply 1287 [PMID: 20872992]
- 12 Freeny PC, Hauptmann E, Althaus SJ, Traverso LW, Sinanan M. Percutaneous CT-guided catheter drainage of infected acute necrotizing pancreatitis: techniques and results. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 969-975 [PMID: 9530046 DOI: 10.2214/ajr.170.4.9530046]
- 13 De Waele JJ. A step-up approach, or open necrosectomy for necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 1286; author reply 1287 [PMID: 20860515 DOI: 10.1056/NEJMc1005950]
- 14 吕益忠, 顾清华, 吴定权, 胡东劲. CT引导下经皮穿刺导管引流术在急性坏死性胰腺炎合并感染中的临床应用. 中华现代影像学杂志 2006; 8: 698-699
- 15 赵丽梅, 冯志杰. 重症急性胰腺炎合并多脏器功能障碍综合症的非手术治疗. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1061-1068
- 16 Vasiliadis K, Papavasiliou C, Al Nimer A, Lamprou N, Makridis C. The role of open necrosectomy in the current management of acute necrotizing pancreatitis: a review article. *ISRN Surg* 2013; 2013: 579435 [PMID: 23431472]
- 17 Besselink MG, Verwer TJ, Schoenmaeckers EJ, Buskens E, Ridwan BU, Visser MR, Nieuwenhuijs VB, Gooszen HG. Timing of surgical intervention in necrotizing pancreatitis. *Arch Surg* 2007; 142: 1194-1201 [PMID: 18086987 DOI: 10.1001/archsurg.142.12.1194]
- 18 Mier J, León EL, Castillo A, Robledo F, Blanco R. Early versus late necrosectomy in severe necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1997; 173: 71-75 [PMID: 9101010]

- 9074366 DOI: 10.1016/S0002-9610(96)00425-4]
19 Rodriguez JR, Razo AO, Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Warshaw AL, Fernández-del Castillo C. Debridement and closed packing for sterile or

infected necrotizing pancreatitis: insights into indications and outcomes in 167 patients. *Ann Surg* 2008; 247: 294-299 [PMID: 18216536 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815b6976]

■同行评价
本文具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录, 在国际上享有较高声誉和影响力. WJG在PubMed Central (PMC)统计, 单月独立IP地址访问58 257次, 全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次, 全文PDF下载59 694次. 另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计, 2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种, 总被引频次排名, WJG位于第174名. (2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

胃肠激素及细胞因子水平对轮状病毒性腹泻发病机制及病情进展的预测价值

吴伟民, 吴会超, 许晴晴, 聂军

■背景资料

目前关于轮状病毒的发病机制尚不明确, 因此临床上尚没有有效的预防药物。国外研究指出在轮状病毒感染的小鼠中其胃肠激素及细胞因子水平显著增加。国内相关报告表明, 急性腹泻期儿童中胃泌素(gastrin)、胃动素(motilin)水平高于正常健康儿童。

吴伟民, 许晴晴, 聂军, 贵州省遵义市第一人民医院消化内科 贵州省遵义市 563002

吴会超, 遵义医学院附属医院消化科 贵州省遵义市 563002

吴伟民, 副主任医师, 主要从事胃肠内镜下治疗。

作者贡献分布: 本研究设计由吴伟民完成; 吴会超、许晴晴及聂军共同参与研究; 文章撰写由吴伟民完成。

通讯作者: 吴伟民, 副主任医师, 563002, 贵州省遵义市凤凰北路98号, 贵州省遵义市第一人民医院消化内科。

wuw0852@126.com

电话: 0852-8935785

收稿日期: 2013-08-21 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-10-18 在线出版日期: 2013-10-28

Predictive significance of serum levels of gastrointestinal hormones and cytokines for disease progression in patients with rotavirus diarrhea

Wei-Min Wu, Hui-Chao Wu, Qing-Qing Xu, Jun Nie

Wei-Min Wu, Qing-Qing Xu, Jun Nie, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi 563002, Guizhou Province, China

Hui-Chao Wu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563002, Guizhou Province, China

Correspondence to: Wei-Min Wu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Zunyi, 98 Fenghuang North Road, Zunyi 563002, Guizhou Province, China. wuw0852@126.com

Received: 2013-08-21 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-10-18 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To assess the early predictive value of serum levels of gastrointestinal hormones and cytokines in patients with rotavirus diarrhea.

METHODS: Serum levels of 5-serotonin, vasoactive intestinal peptide (VIP), gastrin (GAS), motilin (MOT) and cytokines (endothelin, IL-10) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 65 children with severe, moderate or mild rotavirus infection during acute or convalescent phase and 60 normal healthy children.

RESULTS: Serum levels of 5-serotonin, VIP, GAS, MOT, and endothelin were significantly higher and that of IL-10 was significantly lower in children with rotavirus infection during the acute phase than in normal control controls (all $P < 0.05$). Serum levels of 5-HT, VIP, MOT, and endothelin were significantly higher in patients with severe rotavirus infection than in those with moderate or mild rotavirus infection (all $P < 0.05$). Serum levels of GAS and IL-10 showed no significant difference between patients with moderate rotavirus infection and those with mild disease ($P > 0.05$). Serum levels of 5-serotonin, VIP, endothelin and IL-10 were significantly higher in patients with acute phase rotavirus infection having diarrhea > 3 d than in those having diarrhea < 3 d (all $P < 0.05$), while GAS and MOT levels were not statistically significant between the two groups (both $P > 0.05$).

CONCLUSION: Pathophysiological changes in rotavirus diarrhea may be associated with the changes in serum levels of gastrointestinal hormones and cytokines. The relevant gastrointestinal hormones and cytokines may be used to predict rotavirus disease progression.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Motilin; Gastrin; Vasoactive intestinal peptide; Rotavirus diarrhea

Wu WM, Wu HC, Xu QQ, Nie J. Predictive significance of serum levels of gastrointestinal hormones and cytokines for disease progression in patients with rotavirus diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3296-3300 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3296.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3296>

摘要

目的: 探讨轮状病毒性腹泻患者体内胃肠激

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 郑州大学第二附属医院消化科

素和细胞因子的变化及其对腹泻的早期预测价值.

方法: 采用ELISA酶联免疫法空腹测定65例不同疾病时期、不同病程及不同疾病程度的轮状病毒感染患儿及60例正常健康儿童血清中5-羟色胺、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、胃泌素(gastrin, GAS)、胃动素(motilin, MOT)以及细胞因子[内皮素、白介素(interleukin-10, IL-10)]水平.

结果: 胃肠急性期血清中5-羟色胺($1942.3 \mu\text{g/L} \pm 512.3 \mu\text{g/L}$)、VIP($626.3 \mu\text{g/L} \pm 271.2 \mu\text{g/L}$)、GAS($1232.9 \mu\text{g/L} \pm 212.3 \mu\text{g/L}$)、MOT($569.3 \mu\text{g/L} \pm 81.5 \mu\text{g/L}$)、内皮素($59.6 \mu\text{g/L} \pm 11.7 \mu\text{g/L}$)、IL-10($11.4 \mu\text{g/L} \pm 11.9 \mu\text{g/L}$), 与对照组比较除IL-10下降外, 其他均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 其中重型腹泻5-羟色胺($2563.3 \mu\text{g/L} \pm 418.6 \mu\text{g/L}$)、VIP($728.9 \mu\text{g/L} \pm 245.3 \mu\text{g/L}$)、MOT($578.3 \mu\text{g/L} \pm 73.9 \mu\text{g/L}$)、内皮素($54.6 \mu\text{g/L} \pm 10.7 \mu\text{g/L}$)高于轻、中型, 而中型5-羟色胺($1789.6 \mu\text{g/L} \pm 385.2 \mu\text{g/L}$)、VIP($452.6 \mu\text{g/L} \pm 112.4 \mu\text{g/L}$)、MOT($578.3 \mu\text{g/L} \pm 73.9 \mu\text{g/L}$)、内皮素($37.9 \mu\text{g/L} \pm 12.2 \mu\text{g/L}$)高于轻型, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而中重型血清中GAS($1214.7 \mu\text{g/L} \pm 212.5 \mu\text{g/L}$)、IL-10($30.8 \mu\text{g/L} \pm 4.8 \mu\text{g/L}$)与轻型($1189.6 \mu\text{g/L} \pm 208.2 \mu\text{g/L}$)、($34.2 \mu\text{g/L} \pm 11.4 \mu\text{g/L}$)无统计学意义($P > 0.05$). 急性期中腹泻时间 >3 d者血清中5-羟色胺($2296.3 \mu\text{g/L} \pm 456.8 \mu\text{g/L}$)、VIP($852.6 \mu\text{g/L} \pm 178.2 \mu\text{g/L}$)、内皮素($57.3 \mu\text{g/L} \pm 11.2 \mu\text{g/L}$)、IL-10($41.6 \mu\text{g/L} \pm 11.4 \mu\text{g/L}$), 腹泻时间 <3 d者分别是($1772.3 \mu\text{g/L} \pm 245.3 \mu\text{g/L}$)、($428.6 \mu\text{g/L} \pm 105.3 \mu\text{g/L}$)、($29.6 \mu\text{g/L} \pm 11.4 \mu\text{g/L}$)、($30.8 \mu\text{g/L} \pm 10.6 \mu\text{g/L}$), 急性期中腹泻时间 >3 d以上给出指标均大于腹泻时间 <3 d者, 而GAS、MOT水平无统计学意义($P > 0.05$).

结论: 轮状病毒性腹泻病理生理的改变可能与胃肠激素水平及细胞因子水平的改变有关, 通过对相关的胃肠激素及细胞因子水平的测定能有效预测轮状病毒病情的进展.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃动素; 胃泌素; 血管活性肠肽; 轮状病毒腹泻

核心提示: 本文将对小儿轮状病毒性感染患儿血清中胃肠激素及细胞因子水平进行分析, 探讨胃肠激素在轮状病毒性腹泻中的发病机制及其对

病情进展的预测价值, 为临床疾病诊治提供新的依据.

吴伟民, 吴会超, 许晴晴, 聂军. 胃肠激素及细胞因子水平对轮状病毒性腹泻发病机制及病情进展的预测价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3296-3300 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3296.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3296>

0 引言

轮状病毒引起的腹泻是儿科中常见的肠道传染性感染疾病, 患者临床症状表现为水样大便、大便的次数增多, 每天可达数十次, 病情严重者可出现脱水症状^[1]. 目前关于轮状病毒的发病机制尚不明确, 因此临床上尚没有有效的预防药物^[2]. 国外研究^[3]指出在轮状病毒感染的小鼠中其胃肠激素及细胞因子水平显著增加. 国内相关^[4]报告表明, 急性腹泻期儿童中胃泌素(gastrin, GAS)、胃动素(motilin, MOT)水平高于正常健康儿童. 本文将对小儿轮状病毒性感染患儿血清中胃肠激素及细胞因子水平进行分析, 探讨胃肠激素在轮状病毒性腹泻中的发病机制及其对病情进展的预测价值, 为临床疾病诊治提供新的依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2013-06本院收治的轮状病毒性感染患儿65例为研究对象, 入选标准: (1)符合《实用儿科》(第七版)^[5]中对小儿轮状病毒性腹泻的诊断标准; (2)患儿经双抗夹心法检测后证实为轮状病毒抗原阳性; (3)患儿均偏食、厌食及腹痛病史; (4)患儿家属均签署知情同意书. 排除标准: (1)先天性肠道发育不全; (2)肝肾功能不全; (3)1 mo内出现呕吐及腹泻病史. 65例患儿中男32例, 女33例, 年龄6-24 mo, 平均年龄 $8.96 \text{ mo} \pm 2.31 \text{ mo}$, 病程为0-7 d, 平均病程为 $2.8 \text{ d} \pm 0.7 \text{ d}$, 患者临床症状表现为不同程度腹泻、发热、呕吐. 根据《中国腹泻诊断治疗方案》将患儿分为轻型 21例, 中型24例, 重型20例. 疾病急性期: 患儿入院24 h内; 恢复期: 患儿全身症状消失, 粪便次数及性质恢复正常. 其中38例患儿腹泻时间 $\leq 3 \text{ d}$, 27例患儿腹泻时间 $>3 \text{ d}$. 同时选取健康体检儿童60例作为对照组, 男30例, 女30例, 年龄6 mo-3岁, 平均年龄 $12.81 \text{岁} \pm 3.24 \text{岁}$, 两组儿童性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$).

1.2 方法 分别于清晨空腹抽取轮状病毒感染患儿急性期、恢复期及对照组儿童静脉血液

■ 相关报道

近年研究表明, 腹泻是非常复杂的过程, 肠道吸收不良是引起腹泻的原因之一. 近年研究证实, 胃肠激素的释放及细胞因子水平的增加与胃肠腹泻有密切关系.

■应用要点

轮状病毒肠炎的发病机制复杂, 胃肠激素及细胞因子水平的上升可能是破坏胃肠平衡的主要因素, 对预测肠炎病情的进展具有重要的作用。

表 1 不同时期肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 (mean ± SD, μg/L)

分组	n	胃泌素	胃动素	5-羟色胺	血管活性肠肽	内皮素	白介素-10
急性期	65	1232.9 ± 212.3 ^{ac}	569.3 ± 81.5 ^{ac}	1942.3 ± 512.3 ^a	626.3 ± 271.2 ^{ac}	59.6 ± 11.7 ^{ac}	11.4 ± 11.9 ^{ac}
恢复期	65	712.3 ± 142.2	253.8 ± 71.4	1305.9 ± 339.5	145.3 ± 54.2	28.4 ± 10.8	26.9 ± 7.4
对照组	60	622.6 ± 171.5	264.3 ± 31.6	1285.3 ± 456.3	126.3 ± 59.6	25.2 ± 4.5	23.2 ± 10.2
F值		68.342	65.785	98.625	78.456	66.328	54.292
P值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004

^aP<0.05 vs 恢复期; ^cP<0.05 vs 对照组。

表 2 不同程度肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 (mean ± SD, μg/L)

分组	n	胃泌素	胃动素	5-羟色胺	血管活性肠肽	内皮素	白介素-10
轻型	21	1189.6 ± 208.2	254.6 ± 81.9	1128.1 ± 298.6	178.6 ± 45.2	24.2 ± 11.3	34.2 ± 11.4
中型	24	1208.6 ± 205.3	562.3 ± 72.5 ^a	1789.6 ± 385.2 ^a	452.6 ± 112.4 ^a	37.9 ± 12.2 ^a	32.2 ± 5.6
重型	20	1214.7 ± 212.5	578.3 ± 73.9 ^a	2563.3 ± 418.6 ^{ac}	728.9 ± 245.3 ^{ac}	54.6 ± 10.7 ^{ac}	30.8 ± 4.8
F值		6.998	45.328	78.852	69.320	31.280	7.862
P值		0.851	0.005	0.000	0.000	0.014	0.489

^aP<0.05 vs 轻型组; ^cP<0.05 vs 中型组。

各5 mL, 将血液装进含有EDTA-Na的试管中, 以1500 r/min的速度低温下离心15 min, 留取上清液, 并置于-20 °C下保存待用。血清中5-羟色胺、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、GAS、MOT、内皮素、白介素(interleukin-10, IL-10)采用ELISA酶联免疫法检测, 5-羟色胺、VIP、MOT、GAS及内皮素试剂盒均购于福州迈新生物技术公司, IL-10试剂盒均购于北京金桥生物技术公司。

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析, 计量资料采用mean ± SD表示, 多组计量资料间比较采用方差分析, 进一步的两两比较采用LSD-t法; 两独立样本组间比较采用两独立样本t检验, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同时期肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 胃肠急性期血清中5-羟色胺、VIP、GAS、MOT、内皮素水平显著高于恢复期及对照组, 而IL-10显著下降, 与恢复期比较差异有统计学意义(P<0.05)(表1)。

2.2 不同程度肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 急性期重型腹泻5-羟色胺、VIP、MOT、内皮素水平高于轻、中型, 中型5-羟色胺、VIP、内皮素水平高于轻型, 差异有统计学意义(P<0.05), 而中型血清中MOT、GAS、

IL-10水平与轻型无统计学意义(P>0.05)(表2)。

2.3 不同病程肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 急性期中腹泻时间>3 d者血清中5-羟色胺、VIP、内皮素、IL-10水平显著高于腹泻时间≤3 d者, 而GAS、MOT水平无统计学意义(P>0.05)(表3)。

3 讨论

在以往的研究中认为轮状病毒引起的腹泻是由于婴幼儿肠道上皮细胞功能低下, 肠道吸收面积变小以及肠道黏膜受损引起的肠道吸收功能不良引起的^[6]。此外, 由于婴幼儿肠道上皮细胞发育不完善导致肠道不能吸收乳糖, 当机体感染病菌后, 致病菌将对乳糖进行分解并产生相关分解产物导致肠腔内渗透压上升引起腹泻。近年研究表明^[7], 腹泻是非常复杂的过程, 肠道吸收不良是引起腹泻的原因之一。近年研究证实^[8], 胃肠激素的释放及细胞因子水平的增加与胃肠腹泻有密切关系。为此, 本文将对轮状病毒感染患儿体内胃肠激素及细胞因子的变化情况进行观察, 探讨其对胃肠疾病进展的预测价值。

消化系黏膜是人体最复杂、最大的内分泌器官, 对胃肠功能起到重要的调控作用。GAS是由小肠上部黏膜及胃窦产生及释放, 其作用是刺激胃蛋白酶及胃酸分泌, 并促进胃肠功能蠕动, 增加胃肠血流量, 对促进胃肠黏膜生长有重

表 3 不同病程肠炎血清胃肠激素及炎症因子水平分析 (mean ± SD, μg/L)

分组	n	胃泌素	胃动素	5-羟色胺	血管活性肠肽	内皮素	白介素-10
腹泻时间≤3 d	38	1241.6 ± 456.3	578.9 ± 85.7	1772.3 ± 245.3	428.6 ± 105.3	29.6 ± 11.4	30.8 ± 10.6
腹泻时间>3 d	27	1208.6 ± 385.2	596.3 ± 78.6	2296.3 ± 456.8 ^a	852.6 ± 178.2 ^a	57.3 ± 11.2 ^a	41.6 ± 11.4 ^a
t值		1.256	1.798	11.654	7.452	6.321	5.226
P值		0.487	0.346	0.000	0.000	0.001	0.005

^aP<0.05 vs 腹泻时间≤3 d.

要的作用^[8]. MOT可引起消化间期运动综合波运动进而起到清洁肠道的作用. 当机体MOT分泌增加时可引起电解质及肠黏膜水分泌增加, 促使肠道蠕动及胃排空加快, 导致胃肠腹泻^[9]. VIP是机体重要的胃肠神经肽, 主要分布于胃肠道, 具有抑制胃肠运动, 松弛胃肠道平滑肌, 延长胃排空时间作用^[10]. 同时VIP能降低胃肠道蠕动收缩功能, 促使肠道神经应激反应增强, 引起肠道腹泻^[11]. 5-羟色胺是一种与胃肠道具有密切关系的脑肠肽, 属于重要的中枢神经系统信号分子, 其生物学功能主要是与不同受体结合而对肠道起到重要的调节作用^[12]. 内皮素属于强血管物质, 可作为细胞生长因子及神经递质, 其具有调节血管平滑肌收缩及参与前列腺素、NO等物质的释放, 当其含量升高时可引起胃肠道高反应症状, 从而引起腹泻^[13]. 研究表明^[14], 胃肠道腹泻是机体促炎因子与抑炎因子比例失调的结果. IL-10是机体中重要的抑炎因子, 当机体炎症反应剧烈时, 其生成水平下降, 破坏机体免疫状态, 导致胃肠敏感性增加, 引起腹泻的发生^[15].

本研究中胃肠急性期血清中5-羟色胺、VIP、GAS、MOT、内皮素水平显著上升, 而IL-10、水平显著下降, 表明胃肠激素水平的增加及细胞因子水平的紊乱刺激胃肠道功能, 导致胃肠吸收紊乱, 从而引起肠功能紊乱及肠黏膜损伤. 急性期重型腹泻5-羟色胺、VIP、MOT、内皮素水平高于轻、中型, 中型5-羟色胺、VIP、内皮素水平高于轻型, 差异有统计学意义, 而中型血清中MOT、GAS、IL-10水平与轻型无统计学意义, 从而提示血清中5-羟色胺、VIP、MOT、内皮素水平与患儿病情的发展是一致的, 随着病情的恢复相关指标水平也随之下降. 此外, 本研究发现随着患儿腹泻时间的延长, 5-羟色胺、VIP、内皮素、IL-10水平显著上升, 从而提示5-羟色胺、VIP、内皮素、IL-10能更好地预测患儿腹泻病情的进展、肠功能紊乱、肠黏膜炎性损伤及机体免疫反应.

总之, 轮状病毒肠炎的发病机制复杂, 胃肠激素及细胞因子水平的上升可能是破坏胃肠平衡的主要因素, 对预测肠炎病情的进展具有重要的作用.

4 参考文献

- Cigán M, Donovalová J, Szöcs V, Gašpar J, Jakusová K, Gáplovský A. 7-(Dimethylamino)coumarin-3-carbaldehyde and its phenylsemicarbazone: TICT excited state modulation, fluorescent H-aggregates, and preferential solvation. *J Phys Chem A* 2013; 117: 4870-4883 [PMID: 23697644 DOI: 10.1021/jp402627a]
- González R, Rivero L. [Genetic diversity of rotavirus group a: correlation between G3 type and severity of the infection. Valencia, Venezuela]. *Invest Clin* 2013; 54: 34-46 [PMID: 23781711]
- Wojdyla JA, Manolaridis I, van Kasteren PB, Kikkert M, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Tucker PA. Papain-like protease 1 from transmissible gastroenteritis virus: crystal structure and enzymatic activity toward viral and cellular substrates. *J Virol* 2010; 84: 10063-10073 [PMID: 20668092 DOI: 10.1128/JVI.00898-10]
- 王永森, 白锡波, 冀向宁, 郭艳汝, 马晓博. 小儿原发性肠套叠诱发因素与胃动素水平的关系. *山东医药* 2012; 52: 67-68
- 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1286-1300
- 张昕, 高永军, 冯子健, 王子军, 冉陆. 2008年全国其他感染性腹泻报告病例信息分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3370-3375
- 房龙, 杜时雨, 姚树坤, 张艳丽, 李艳梅. 急性逆行胃电刺激对肥胖患者胃容受性、胃排空和胃肠激素释放的影响. *中华消化杂志* 2011; 6: 395-396
- 吴波, 郑长青. 幽门螺杆菌、胃肠激素与糖尿病胃轻瘫的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1616-1619
- 黄保民, 李颖, 马仲丽, 张薇. 大承气汤对里实热证大鼠胃肠激素GAS、MTL、VIP、NT的影响. *北京中医药大学学报* 2012; 10: 375-376
- 程晓雯, 郑清华, 李小玲, 林中. 血管活性肠肽与某些胃肠动力紊乱性疾病的内在关联研究进展. *中国全科医学* 2012; 15: 237-241
- Wang HH, Portincasa P, Liu M, Tso P, Samuelson LC, Wang DQ. Effect of gallbladder hypomotility on cholesterol crystallization and growth in CCK-deficient mice. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 138-146 [PMID: 19836465]
- Herbert MK, Holzer P. Standardized concept for the treatment of gastrointestinal dysmotility in critically ill patients--current status and future options. *Clin Nutr* 2008; 27: 25-41 [PMID: 17933437 DOI:

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 结论可信, 讨论丰富, 对临床医师有很好的参考价值.

- 10.1016/j.clnu.2007.08.001]
- 13 吴文江, 陶双友, 韩棉梅, 梁嘉恺, 罗琦, 何丽英, 周福生. 疏肝健脾、安神和胃法治疗功能性腹泻模型大鼠的作用机制. 中国老年学杂志 2013; 3: 215-216
- 14 李甜甜, 吕宗舜, 王邦茂, 张洁. 难治性溃疡性结肠炎与巨细胞病毒的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1174-1177
- 15 李春伟, 孙风波, 张佃良, 郑红梅, 宋波. 血清IL-10水平与胃窦癌恶病质的关系. 肠外与肠内营养 2010; 17: 69-71

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传递、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医中药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

儿童主要肠道病毒感染手足口病的临床比较

姜泓, 张义和

姜泓, 张义和, 陕西省延安大学附属医院儿科 陕西省延安市 716000

姜泓, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事新生儿重症监护、急救、早产儿救治及后期干预的研究。

作者贡献分布: 课题的设计、病例收集及数据分析等由姜泓完成; 张义和参与数据处理; 论文写作由姜泓与张义和共同完成。

通讯作者: 姜泓, 主任医师, 副教授, 716000, 陕西省延安市中心街43号, 延安大学附属医院儿科四病区. yiyunshanxi@aliyun.com 电话: 0911-2881218

收稿日期: 2013-07-29 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-28

Comparative analysis of clinical features and laboratory findings for hand, foot and mouth disease caused by different enteroviruses

Hong Jiang, Yi-He Zhang

Hong Jiang, Yi-He Zhang, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shanxi Province, China

Correspondence to: Yi-He Zhang, Chief Physician, Associate Professor, Affiliated Hospital of Yan'an University, 43 Zhongxin Street, Yan'an 716000, Shanxi Province, China. yiyunshanxi@aliyun.com

Received: 2013-07-29 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To explore the differences in the clinical features, vital signs and laboratory findings for hand, foot and mouth disease (HFMD) caused by enterovirus 71 (EV71) and Cocksackie virus (CoxA16).

METHODS: Clinical data for 116 children diagnosed with HFMD from August 2011 to February 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Boys accounted for 57.5% in the EV71 group, which was lower than that in the CoxA16 group ($\chi^2 = 5.6, P < 0.05$). The average age was younger and hospital stays was shorter in the CoxA16 group than in the EV71 group (2.2 ± 0.6 years *vs* 3.4 ± 1.0 years; 6.1 ± 1.6 d *vs* 4.6 ± 0.8 d). The incidence of salivation and dental ulcer was higher in the CoxA16 group, but the performance of vomiting, drowsiness, hyper-spasmia, highest body temperature ($38.2^\circ\text{C} \pm$

0.9°C), heart rate ($122/\text{min} \pm 21/\text{min}$), respiratory rate ($26/\text{min} \pm 6/\text{min}$), highest systolic blood pressure ($98 \text{ mmHg} \pm 7 \text{ mmHg}$), highest diastolic blood pressure ($64 \text{ mmHg} \pm 9 \text{ mmHg}$) in the CoxA16 group were all lower than those in the EV71 group. In addition, serum levels of lactic acid dehydrogenase (LDH) ($256.1 \text{ U/L} \pm 25.7 \text{ U/L}$), creatine kinase ($91.8 \text{ U/L} \pm 30.2 \text{ U/L}$), creatine kinase-MB ($26.6 \text{ U/L} \pm 10.5 \text{ U/L}$) and C reactive protein ($8.6 \text{ mg/L} \pm 3.2 \text{ mg/L}$) in the EV71 group were higher.

CONCLUSION: Children with HFMD should be differentially treated depending on distinct pathogens. Clinical observations should be strengthened to help identify critical cases early and offer them effective treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hand, foot and mouth disease; Enterovirus; Comparative analysis

Jiang H, Zhang YH. Comparative analysis of clinical features and laboratory findings for hand, foot and mouth disease caused by different enteroviruses. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3301-3305 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3301>

摘要

目的: 探讨肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)和柯萨奇病毒A组16型(Cocksackie virus, CoxA16)所致的手足口病患儿的临床表现、生命体征及实验室检查的差异性, 并指导临床治疗。

方法: 回顾性分析我院2011-08/2013-02收治的手足口病患儿的临床资料及预后。

结果: EV71患儿中男童占68.9%, 男童比例低于CoxA16组($\chi^2 = 5.6, P < 0.05$)。CoxA16患儿的平均年龄为 2.2 ± 0.6 岁, 住院时间为 4.6 ± 0.8 d, 均低于EV71患儿组(平均年龄为 3.4 ± 1.0 岁, 住院时间为 6.1 ± 1.6 d), $P < 0.01$, 差异具有统计学意义。CoxA16患儿的流涎

■背景资料

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是一种常见的儿童传染病, 多发生于5岁以下儿童, 可引起手、足、口腔等部位的疱疹, 少数重症患儿可出现心肌炎、肺水肿、脑膜脑炎等并发症。重症患儿的病情发展快, 若治疗不及时可能导致死亡。以往研究发现, 肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)和柯萨奇病毒A组16型(Cocksackie virus, CoxA16)是其中最主要的病原体。

■同行评议者

王忠裕, 教授, 大连医科大学附属第一医院普通外科二科

■研究前沿

手足口病是由肠道病毒引起的传染病, 引发手足口病的肠道病毒有20多种(型), 其中以柯萨奇病毒A16型(CoxA16)和肠道病毒71型(EV71)最为常见。由于不同病原体甚至同一病原体的不同亚型之间不具有交叉免疫, 因此手足口病可以重复感染发病。

和口腔溃疡的发生率较高, 而呕吐、嗜睡及抽搐的发生率较低。并且其最高体温($38.2^{\circ}\text{C} \pm 0.9^{\circ}\text{C}$)、心率($122\text{次}/\text{min} \pm 21\text{次}/\text{min}$)、呼吸频率($26\text{次}/\text{min} \pm 6\text{次}/\text{min}$)、最高收缩压($98\text{ mmHg} \pm 7\text{ mmHg}$)及舒张压($64\text{ mmHg} \pm 9\text{ mmHg}$)方面的水平也均低于EV71患儿组, $P < 0.01$, 差异具有统计学意义。EV71患儿的乳酸脱氢酶(lactic acid dehydrogenase, LDH) $256.1\text{ U/L} \pm 25.7\text{ U/L}$, 肌酸激酶(creatine kinase, CK) $91.8\text{ U/L} \pm 30.2\text{ U/L}$, 肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB) $26.6\text{ U/L} \pm 10.5\text{ U/L}$ 以及C反应蛋白(C reactive protein, CRP) $8.6\text{ mg/L} \pm 3.2\text{ mg/L}$ 均较高。

结论: 对于手足口病患儿, 需要根据所感染病原体不同, 加强临床观察, 早期识别危重病例, 及时进行有效的治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 手足口病; 肠道病毒; 临床比较

核心提示: 本次研究中特意收集了患儿的白细胞、血小板、血糖、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactic acid dehydrogenase, LDH)以及C反应蛋白(C reactive protein, CRP)指标。与CoxA16患儿相比, EV71患儿的LDH、CK、CK-MB以及CRP值均较高, 尽管后期两组患儿的转危重率无统计学差异, 但是对于EV71患儿要更加预防其发生心衰, 这对于下一步的临床治疗具有一定的指导意义。

姜泓, 张义和, 儿童主要肠道病毒感染手足口病的临床比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3301-3305 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3301>

0 引言

手足口病(hand-foot-and-mouth disease, HFMD)是一种常见的儿童传染病, 多发生于5岁以下儿童, 可引起手、足、口腔等部位的疱疹, 少数重症患儿可出现心肌炎、肺水肿、脑膜脑炎等并发症。重症患儿的病情发展快, 若治疗不及时可能导致死亡。以往研究发现, 肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)和柯萨奇病毒A组16型(Coxsackie virus, CoxA16)是其中最主要的病原体^[1]。回顾性研究我院收治的患儿病例发现这两种病原体所致手足口病临床特点确有差异, 这对于早期发现危重型患儿具有一定的临床意义, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-08/2013-02收治的手足口病患儿124例作为入选对象, 其中城镇患儿38例, 农村患儿86例。男童83例, 女童41例, 平均年龄 $3.0\text{岁} \pm 0.8\text{岁}$; 有明确“手足口病”患儿接触史78例, 无“手足口病”患儿接触史46例; 经过我院检验科病毒检测, 由单纯柯萨奇病毒(CoxA16)引起的64例, 单纯EV71病毒引起的52例, 混合感染者8例。将单纯肠道病毒致病的患儿作为最终研究对象, 共116例。所有患儿经综合治疗后均痊愈出院, 无死亡病例发生。诊断标准: 符合中华人民共和国卫生部《手足口病诊疗指南》(2010年版)的诊断标准^[2]。(1)有流行病学资料;(2)急性起病, 大部分病例有发热;(3)皮肤出现疱疹, 以手足掌背及臀部皮肤出现疱疹为特征;(4)口腔黏膜出现红斑、水疱或溃疡, 疼痛明显。

1.2 方法

1.2.1 病原学检测^[3]: 采用反转录-聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)方法进行EV71与CoxA16、肠道病毒通用型检测, 试剂盒购自达安基因股份有限公司, 116例患者标本均经重复检测确认为单纯EV71、CoxA16肠道病毒感染。

1.2.2 检测内容及治疗方法: 回顾性分析单纯由肠道病毒EV71与CoxA16感染患儿的性别、年龄、病程、临床表现、生命体征、实验室检查、治疗及预后等情况并进行比较分析。具体方法为116例患儿入院后即开始询问病史, 收集基础信息, 进行全面体格检查, 如血常规(白细胞计数、血小板)、乳酸脱氢酶(lactic acid dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)、血糖(glucose, GLU)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、心电图等; 并进行柯萨奇病毒(CoxA16)、EV71抗体检测。治疗方法均采用抗病毒药物利巴韦林 [$10\text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], 静脉滴注喜炎平注射液 [$0.4\text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], 地塞米松 [$0.5\text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]及静脉用丙种球蛋白 [$400\text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]等治疗; 查血常规提示白细胞(white blood cell count, WBC) $\geq 10 \times 10^9/\text{L}$ 者, 加用抗生素头孢呋辛 [$100\text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]静脉滴注抗感染, 若对头孢呋辛过敏者可改用阿奇霉素 [$10\text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]^[4]。

统计学处理 采用EpiData3.0进行数据录入及整理, 采用SPSS17.0软件进行数据分析, 描

表 1 两组患儿一般情况比较

分组	n	性别(n)		年龄(岁)	住院时间(d)	病程(d)
		男	女			
CoxA16	64	50	14	2.2 ± 0.6	4.6 ± 0.8	8.9 ± 2.3
EV71	52	30	22	3.4 ± 1.0	6.1 ± 1.6	9.1 ± 2.2
t/χ^2		5.6		7.995	6.160	0.474
P值		<0.05		<0.01	<0.01	>0.05

CoxA16: 柯萨奇病毒A组16型; EV71: 肠道病毒71型.

表 2 两组患儿主要临床表现情况 (n)

分组	n	流涎	呕吐	嗜睡	抽搐	易惊	口腔溃疡	手足口皮疹	肺水肿
CoxA16	64	42	10	9	3	15	51	64	0
EV71	52	22	27	24	10	19	30	50	2
χ^2 值		6.31	17.40	14.52	6.10	2.38	6.59	0.75	0.75
P值		<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05

CoxA16: 柯萨奇病毒A组16型; EV71: 肠道病毒71型.

述性统计采用mean±SD、率等指标, 计数资料采用 χ^2 检验, 两组计量资料比较采用t检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 CoxA16患儿, 男童50例, 占78.1%, 女童14例, 占21.9%. EV71患儿, 男30例, 占57.7%, 女童22例, 占42.3%, 男童比例低于CoxA16组($\chi^2 = 5.6, P<0.05$). CoxA16患儿的平均年龄和住院时间均低于EV71患儿, 差异具有统计学意义($t = 7.995, t = 6.160, P<0.01$), 但是两组患儿的病程并无统计学差异($P>0.05$, 表1).

2.2 临床表现 CoxA16患儿在流涎、呕吐、嗜睡、抽搐、口腔溃疡几个方面的表现与EV71患儿有差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$). 具体表现为CoxA16患儿的流涎和口腔溃疡的发生率较高, 而呕吐、嗜睡及抽搐的发生率较低. 两组患儿在易惊、手足口皮疹及肺水肿方面的表现无统计学差异($P>0.05$, 表2).

2.3 生命体征 CoxA16患儿在最高体温、心率、呼吸频率、最高收缩压及舒张压方面的水平均低于EV71患儿组, 具有统计学差异($P<0.01$). 而在发热持续时间、病情稳定时间以及转危重率方面两组无显著性差异(表3).

2.4 实验室指标 与CoxA16患儿相比, EV71患儿的LDH、CK、CK-MB以及CRP值均较高. 两组患儿在WBC、血小板计数(platelet count, PLT)

方面无统计学差异($P>0.05$, 表4).

2.5 预后情况 两组患儿经过治疗后, 均全部治愈, 没有死亡病例发生.

3 讨论

手足口病是由肠道病毒引起的传染病, 引发手足口病的肠道病毒有20多种(型), 其中以柯萨奇病毒A16型(CoxA16)和肠道病毒71型(EV71)最为常见. 由于不同病原体甚至同一病原体的不同亚型之间不具有交叉免疫, 因此手足口病可以重复感染发病. 特别是在一些卫生条件较差的国家或地区, 经常出现多种病毒同时感染的病例, 如在卫生条件较差的国家, 已有文献报道存在多种肠道病毒混合感染. 王妙婵等^[5]对2008-08/2009-06杭州儿童手足口病肠道病毒感染情况调查发现, 2种病毒同时感染的共55例, 占11.8%, 3种病毒同时感染的共227例(其中以柯萨奇病毒、埃可病毒、肠病毒同时感染居多), 占47.8%, 4种病毒同时感染的有26例, 占5.6%. 可见患儿体内确实存在不同肠道病毒的混合感染. 本次研究旨在重点了解柯萨奇病毒A16型(CoxA16)和肠道病毒71型(EV71)的临床表现、生命体征及实验室指标间的差异, 故排除了混合感染病例, 这也是本次研究的特殊需要.

手足口病的多数轻症患者早期有咳嗽流涕和流口水等类似上呼吸道感染的症状, 有的孩子可能有恶心、呕吐等反应. 发热1-2 d后开始

■ 相关报道

王妙婵等对2008-08/2009-06杭州儿童手足口病肠道病毒感染情况调查发现, 2种病毒同时感染的共55例, 占11.8%, 3种病毒同时感染的共227例(其中以柯萨奇病毒、埃可病毒、肠病毒同时感染居多), 占47.8%, 4种病毒同时感染的有26例, 占5.6%. 可见患儿体内确实存在不同肠道病毒的混合感染.

■应用要点

肠道病毒71型感染的表现更为激烈,在临床中尽早对手足口病肠道病毒进行病原学检测,有助于选取适当的治疗方法和检验项目。

表 3 两组患儿生命体征的表现 (n , mean \pm SD)

分组	n	发热持续时间 (d)	最高体温 ($^{\circ}\text{C}$)	心率 (次/min)	呼吸频率 (次/min)	最高收缩压 (mmHg)	最高舒张压 (mmHg)	病情稳定时间 (h)	转危重率 (%)
CoxA16	64	4.1 \pm 1.0	38.2 \pm 0.9	122 \pm 21	26 \pm 6	98 \pm 7	64 \pm 9	59.6 \pm 20.5	4.1
EV71	52	4.0 \pm 0.9	39.1 \pm 0.8	142 \pm 11	31 \pm 5	118 \pm 13	80 \pm 12	60.3 \pm 21.3	5.3
t/χ^2		0.600	5.627	6.207	4.804	10.572	8.202	0.180	0.02
P 值		>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

CoxA16: 柯萨奇病毒A组16型; EV71: 肠道病毒71型。

表 4 两组患儿实验室检查指标情况 (n , mean \pm SD)

分组	n	WBC($\times 10^9/\text{L}$)	PLT($\times 10^9/\text{L}$)	LDH(U/L)	CK(U/L)	CK-MB(U/L)	GLU($\mu\text{mol/L}$)	CRP(mg/L)
CoxA16	64	10.1 \pm 4.1	276.9 \pm 76.3	233.1 \pm 36.5	75.7 \pm 23.9	15.3 \pm 4.8	5.8 \pm 1.5	6.1 \pm 2.9
EV71	52	9.8 \pm 3.4	280.4 \pm 80.1	256.1 \pm 25.7	91.8 \pm 30.2	26.6 \pm 10.5	5.6 \pm 1.4	8.6 \pm 3.2
χ^2 值		0.423	0.240	3.835	3.206	7.683	0.736	4.363
P 值		>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01

WBC: 白细胞计数; PLT: 血小板; LDH: 乳酸脱氢酶; CK: 肌酸激酶; CK-MB: 肌酸激酶同工酶; GLU: 血糖; CRP: C反应蛋白。

出现皮疹,通常在手足、臀部出现,大多数患儿在1 wk以内体温下降、皮疹消退,病情恢复^[6-9]。感染不同病毒引起的表现略有不同,本次研究中发现柯萨奇病毒(CoxA16)感染的患儿年龄偏小,以男童为主,占78.1%。流涎和口腔溃疡的发生率较高,生命体征上(最高体温、心率、呼吸频率、最高收缩压及舒张压方面)的表现程度不如肠道病毒71型激烈,这与李国英等^[10]研究结果相近。但与邹美银等^[4]的结果有出入,这主要是由于邹美银等的观察研究重点关注的是重型手足口患儿的临床表现。因此特别是对早期轻症患儿,可以从临床表现上对于其所感染的病毒作出初步判断,以有助于进一步的检查、治疗和护理。

手足口病轻症者通常可给予抗病毒、抗感染、全身支持治疗;而对于重症患者还应密切监测病情变化,尤其是重点监测脑、肺、心等重要脏器功能的变化。而对于危重病人还要特别注意监测血压、血气分析及胸片。本次治疗方法中特别增加了喜炎平注射液^[11-13],取得了较好疗效,全部治愈出院,没有死亡病例发生,可见此种疾病并不可怕。由于肠道病毒主要侵犯皮肤、黏膜、中枢神经系统、肺及心肌,基本不累及肾脏及肝脏^[14,15]。因此,本次研究中特意收集了患儿的WBC、PLT、GLU、CK、CK-MB、LDH以及CRP指标。与CoxA16患儿相比,EV71患儿的LDH、CK、CK-MB以及CRP值均

较高,尽管后期两组患儿的转危重率无统计学差异,但是对于EV71患儿要更加预防其发生心衰,这对于下一步的临床治疗具有一定的指导意义。

总之,两组病毒均是引起手足口病的常见病毒,患儿多表现为皮疹、发热, EV71感染的临床症状在不同地区、不同时间表现不尽相同^[16,17]。但肠道病毒71型感染的表现更为激烈,在临床中尽早对手足口病肠道病毒进行病原学检测,有助于选取适当的治疗方法和检验项目。另外,实验室检查提示肠道病毒71型更容易发生心肌损伤,发生心衰的危险性更高,因此需要给予更多的关注。

4 参考文献

- 1 王晓华. 小儿手足口病1698例. 中华传染病杂志 2002; 20: 246-247
- 2 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南, 2010
- 3 张伟, 王玉光, 杨朝晖, 庞保东, 吴昊, 杨巧芝, 金敏, 杨金玲, 李兴旺, 刘清泉, 张永利. 肠道病毒71型与柯萨奇A组16型混合感染致手足口病并中枢神经系统感染临床分析. 中国全科医学 2011; 14: 3341-3343, 3346
- 4 邹美银, 方翠钧, 陆宗汉, 任金才, 朱勇根. 柯萨奇病毒、肠道病毒71型引起的重型手足口病比较. 临床荟萃 2011; 26: 1619-1620
- 5 王妙婵, 徐爱芳, 高锦. 464例儿童手足口病肠道病毒感染状况分析. 中国卫生检验杂志 2010; 20: 2496-2497
- 6 聂青和. 手足口病流行病学及其临床诊断与治疗. 中国实用内科杂志 2008; 28: 639-641
- 7 黄斯楠. 271例小儿手足口病的观察及护理. 内科 2011; 6: 291-292
- 8 陈丽, 张春兰, 张志力. 手足口病的临床特征及护理.

- 华西医学 2009; 24: 771-772
- 9 张寿斌, 廖华, 黄呈辉, 谭庆瑜, 张炜灵, 黄艳, 陈侃, 邱素清, 林静, 幸思忠, 廖月红. 深圳237例手足口病肠道病毒血清型基因及临床特征. 中国当代儿科杂志 2008; 10: 38-41
 - 10 李国英, 李润青, 张晓慧, 闫茗. 肠道病毒71型和柯萨奇病毒A组致手足口病临床特点分析. 中国全科医学 2012; 15: 1271-1272
 - 11 陈祺棠. 喜炎平治疗小儿手足口病疗效及安全性分析. 内科 2013; 8: 42-43
 - 12 毛碧容, 辛隼, 陈仕晓, 王丽, 田浩, 李文俊. 喜炎平联合干扰素治疗手足口病疗效观察. 华西医学 2009; 24: 1524-1525
 - 13 唐军. 喜炎平注射液在儿科的应用进展. 临床合理用药 2012; 5: 162-163
 - 14 杨绍基. 肠道病毒71型感染. 新医学 2008; 39: 354-355, 366
 - 15 唐红平. 重症手足口病42例临床分析. 新医学 2008; 39: 718-720
 - 16 Fujimoto T, Chikahira M, Yoshida S, Ebira H, Hasegawa A, Totsuka A, Nishio O. Outbreak of central nervous system disease associated with hand, foot, and mouth disease in Japan during the summer of 2000: detection and molecular epidemiology of enterovirus 71. *Microbiol Immunol* 2002; 46: 621-627 [PMID: 12437029]
 - 17 Chong CY, Chan KP, Shah VA, Ng WY, Lau G, Teo TE, Lai SH, Ling AE. Hand, foot and mouth disease in Singapore: a comparison of fatal and non-fatal cases. *Acta Paediatr* 2003; 92: 1163-1169 [PMID: 14632332 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2003.tb02478.x]

■同行评价

本文详细介绍两种病毒引起小儿手足口病的临床症状, 并设计治疗方案, 对临床医师有很高的参考价值。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。

甘肃河西地区人群幽门螺杆菌感染与宿主基因背景的相关性

赵阳, 李波, 张磊, 朱宏文, 成慧娟, 李阳冰, 杨璐西, 李玉民

■背景资料

甘肃省河西地区多年来以来胃癌的发病率与死亡率均高于全国平均水平。*H. pylori*又是重要的生物致癌源, *HLA*基因在种族中有50%的遗传率。环境因素、生活习惯以及宿主基因背景交互作用可能影响了该地区胃癌的发病率。

赵阳, 成慧娟, 李阳冰, 杨璐西, 李玉民, 兰州大学第二医院消化系肿瘤研究所 甘肃省兰州市 730030

李波, 兰州大学第一医院普外二科 甘肃省兰州市 730000

张磊, 兰州大学第二医院 甘肃省兰州市 730030

朱宏文, 兰州大学第二医院遗传学研究室 甘肃省兰州市 730030

赵阳, 助理研究员, 主要从事消化系统肿瘤的防治研究。

作者贡献分布: 赵阳与李玉民参与课题的设计与论文的写作; 李波与朱宏文参与现场的样本收集工作, 并对样本进行整理, 信息的录入等工作; 张磊对观察对象进行了*H. pylori*的检测; 成慧娟、李阳冰及杨璐西对宿主基因背景*HLA-DQ*基因多态性等实施了解析工作。

通讯作者: 李玉民, 教授, 主任医师, 博士生导师, 730030, 甘肃省兰州市城关区翠英门82号, 兰州大学第二医院消化系肿瘤研究所. liym@lzu.edu.cn

电话: 0931-8942850

收稿日期: 2013-06-28 修回日期: 2013-09-04

接受日期: 2013-09-12 在线出版日期: 2013-10-28

Association between *Helicobacter pylori* infection and host genetic background in a population in Hexi, Gansu Province

Yang Zhao, Bo Li, Lei Zhang, Hong-Wen Zhu, Hui-Juan Cheng, Yang-Bing Li, Lu-Xi Yang, Yu-Min Li

Yang Zhao, Hui-Juan Cheng, Yang-Bing Li, Lu-Xi Yang, Yu-Min Li, Institute of Gastrointestinal Tumors, the Second Clinical Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Bo Li, Department of General Surgery (Division II), the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Lei Zhang, Second Clinical Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China

Hong-Wen Zhu, Department of Genetics, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Correspondence to: Yu-Min Li, Professor, Doctoral Tutor, Chief Physician, Institute of Gastrointestinal Tumors, the Second Clinical Hospital of Lanzhou University, 82 Cuiyingmen, Chengguan District, Lanzhou 730030, Gansu province, China. liym@lzu.edu.cn

Received: 2013-06-28 Revised: 2013-09-04

Accepted: 2013-09-12 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To investigate the association between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and host

genetic background in a population in Gansu Province, and to reveal genes associated with *H. pylori* susceptibility.

METHODS: *H. pylori* infection was detected by the urea breath test. The human leukocyte antigen DQ (*HLA-DQ*) gene polymorphisms were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The single nucleotide polymorphisms (SNP) of the interleukin 8 (IL-8), interleukin 4 (IL-4), interleukin 1 β (IL-1 β), cluster of differentiation 14 (CD14), tumor necrosis factor α (TNF- α), and protein-tyrosine phosphatase, non-receptor-type11 (*PTPN11*) genes were detected by polymerase chain reaction with confronting two-pair primers (PCR-CTPP) method. Experimental data were analyzed using SAS statistical software.

RESULTS: The rate of *H. pylori* infection rate was 79.6% in men and 75.5% in women. The DQA1*0301 genotype was associated with a higher risk of *H. pylori* infection (OR = 5.75, 95% CI: 1.01-32.77). The CT genotype of the CD14C-159T allele showed a protective effect against *H. pylori* infection (OR = 0.18, 95% CI: 0.03-0.95).

CONCLUSION: The *HLA-DQ* and *CD14* genes may play a key role in *H. pylori* infection and the occurrence and development of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Genetic cancer; *Helicobacter pylori*; *HLA-DQ*; Infection

Zhao Y, Li B, Zhang L, Zhu HW, Cheng HJ, Li YB, Yang LX, Li YM. Association between *Helicobacter pylori* infection and host genetic background in a population in Hexi, Gansu Province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3306-3313 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3306.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3306>

■同行评议者

张庆瑜, 教授, 天津医科大学总医院科研处

摘要

目的: 探讨甘肃省武威市健康人群中幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与宿主基因背景的相关性, 揭示*H. pylori*的易感基因, 以及为胃癌的防治提供新的策略。

方法: 观察对象采用尿素呼气实验(urea breath test, UBT)方法测定*H. pylori*的感染率; 运用限制性片段长度多态性聚合酶链反应技术(polymerase chain reaction with restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)分析了人类白细胞抗原DQ(human leukocyte antigen DQ, *HLA-DQ*)基因多态性, 以及通过对立引物聚合酶链反应技术(polymerase chain reaction with confronting two-pair primers, PCR-CTPP)的方法对白介素8(interleukin 8, IL-8)、IL-4、IL-1 β 、白细胞分化群14(cluster of differentiation, CD14)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)以及蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型11(protein-tyrosine phosphatase, non-receptor-type 11, *PTPN11*)基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)进行了解析, 实验数据通过SAS统计软件进行了分析。

结果: 武威市健康人群中的*H. pylori*感染率分别为男79.6%; 女75.5%。DQA1*0301基因型在甘肃省武威市健康人群中具有较高的表达(OR = 5.75, 95%CI: 1.01-32.77)。CD14C-159T等位基因的CT基因型对于*H. pylori*的感染具有保护作用(OR = 0.18, 95%CI: 0.03-0.95)。

结论: *HLA-DQ*、*CD14*基因在*H. pylori*的感染以及胃癌的发生、发展过程中扮演着关键的作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 幽门螺旋杆菌; 人类白细胞抗原DQ; 感染

核心提示: 人类白细胞抗原DQ(human leukocyte antigen DQ, *HLA-DQ*)某些基因位点直接作为免疫应答基因, 通过基因产物影响免疫细胞提呈或与其他细胞间相互作用, 使机体对幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)易感; *HLA-DQ*基因和*CD14*基因在*H. pylori*感染引起的胃癌发展中扮演重要角色。

赵阳, 李波, 张磊, 朱宏文, 成慧娟, 李阳冰, 杨璐西, 李玉民. 甘肃河西地区人群幽门螺杆菌感染与宿主基因背景的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3306-3313 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3306.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3306>

0 引言

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是微需氧的革兰氏阴性杆菌, 定植于宿主的胃部以及十二指肠的各区域, 引起胃黏膜的慢性炎症, 进而发展为胃、十二指肠溃疡甚至是胃癌^[1], 该菌被WHO认定为 I 类致癌源。世界上超过50%的人口感染*H. pylori*, 但是80%表现为无症状^[2]。*H. pylori*主要在经济欠发达的地区感染率较高, 中国的*H. pylori*感染率明显高于发达国家^[3]。有研究表明, *H. pylori*的感染与地域、民族、宿主基因背景存在关联^[4], 并且该菌在胃癌的发生、发展中扮演关键作用。

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)位于6号染色体上, 与人类的免疫系统功能密切相关, 在机体对病原体的免疫应答中扮演关键作用^[5]。IL-8是*H. pylori*相关性胃炎发生、发展中的一个重要的调节因子^[6]。白介素4(interleukin-4, IL-4)促进B细胞HLA II类抗原的表达^[7]。IL-1 β 蛋白是一种重要的炎症递质, 参与*H. pylori*感染后的胃部炎症反应^[8,9]。研究发现CD14是递呈*H. pylori*的脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)途径中重要的受体, 与机体对LPS的免疫应答的减弱及促炎细胞因子的分泌水平降低有关^[10]。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)参与炎症反应以及组织修复, 在许多疾病的发生、发展中占有很重要的地位^[11]。蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型11(protein-tyrosine phosphatase, non-receptor-type 11, *PTPN11*)基因位于12号染色体上, 研究发现表达产物Src同源结构域2的蛋白酪氨酸磷酸酶2(Scr homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2, SHP-2)参与细胞毒素相关蛋白A(cytotoxin associated protein A, CagA)引起胃上皮细胞变形最终引起胃癌^[12]。

本研究旨在探讨甘肃省河西地区的健康人群中*H. pylori*的感染与宿主基因背景的相关性, 揭示*H. pylori*的易感基因, 以及为胃癌的防治提供新的策略。

1 材料和方法

1.1 材料 随机抽取2011年从甘肃省河西地区的武威市凉州区黄羊镇的健康人群中随机抽取了

■研发前沿

*H. pylori*广泛存在于自然环境中, 经过粪-口、口-口途径传播, 在同一地域生活的人并不是都会被*H. pylori*所感染。因此, *H. pylori*的感染与宿主的基因背景存在一定的关联。我们期望能揭示*H. pylori*的易感基因, 为预防*H. pylori*感染的基因疫苗的研发提供基础数据。

■相关报道

HLA-DQ通过基因产物影响免疫细胞提呈或与其他细胞间相互作用,使机体对*H. pylori*易感;有研究揭示儿童*H. pylori*感染HLA-DQA1的相关性进行分析,发现DQA1*03基因位点对*H. pylori*具有遗传抵抗作用,DQA1*0501则具有易感作用;*H. pylori*感染的免疫遗传机制可能与多基因相关。

98例,其中男与女分别为49例。年龄39-69岁,平均年龄为52.8岁±9岁。所有抽取的观察对象参加了我们的课题研究,知情同意书得到了兰州大学第二医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*检测: *H. pylori*的感染是通过尿素呼气实验(urea breath test, UBT)来检测的,UBT检测试剂盒是由日本的大家制药有限公司提供,检测结果≥2.5%被视为阳性。在本研究中我们把阳性的用(+)来标注,把阴性用(-)来标注^[13]。

1.2.2 基因多态性分析: 模板DNA是由核酸蛋白提取系统(Kingflex711美国热电公司)从100 μL的外周血白细胞中提取,我们采用聚合酶链式反应连接的限制性片段长度多态性分析(polymerase chain reaction with restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)对人类白细胞抗原DQ(human leukocyte antigen DQ, HLA-DQ)基因多态性,以及采用对立引物聚合酶链反应(polymerase chain reaction with confronting two-pair primers, PCR-CTPP)方法对 IL-8、IL-4、IL-1β、白细胞分化群14(cluster of differentiation, CD14)、TNF-α以及PTPN11的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)进行宿主基因背景的分析^[14-21]。

统计学处理 我们采用*t*检验对*H. pylori*的感染与年龄的差异进行了检定,运用 χ^2 检验对*H. pylori*感染与性别的差异性进行了检定。用Hardy-Weinberg平衡(HWE)检验各基因型频率分布是否符合遗传平衡状态,OR及其95%CI以非条件Logistic回归模型计算,所有检验均为双侧概率检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义,并且对统计数据通过多重比较方法(Bonferroni方法)进行了验证,所有的数据是通过SAS8.2统计软件来完成。

2 结果

2.1 *H. pylori*感染与性别、年龄的分布差异 我们研究发现在甘肃省武威市健康人群中*H. pylori*的感染率较高,男为79.6%、女为75.5%,在本研究中我们未发现*H. pylori*感染与性别、年龄有显著性差异(表1)。

2.2 *H. pylori*感染与HLA-DQA1、DQB1的基因多态性分析 在*H. pylori*感染与HLA-DQA1、DQB1基因多态性关联性的分析中发现,DQA1*0301在甘肃省武威市健康人群中具有较高的表达。携带有这个基因的群体比携带

表1 甘肃省武威地区健康人群中*H. pylori*感染与性别、年龄的分布差异 $n(\%)$

分组	<i>H. pylori</i> (+)	<i>H. pylori</i> (-)
性别		
男	39 (79.6)	10(20.4)
女	37 (75.5)	12(24.5)
年龄(岁)		
≤40	8 (72.7)	3(27.3)
41-50	28(70.0)	12(30.0)
51-60	14(82.4)	3(17.7)
>60	26(86.7)	4(13.3)

H. pylori: 幽门螺杆菌。

有DQA1*0601的群体容易感染*H. pylori*(OR = 5.75, 95%CI: 1.01-32.77), 同时我们还发现该人群中DQA1*0501也有一个较高的表达,但是未发现与*H. pylori*感染有统计学意义的关联(表2)。

2.3 *H. pylori*感染与HLA-DQA1、DQB1单元型分析 我们在本研究的HLA-DQA1、DQB1单元型关联性分析时发现,与DQA1*0501相结合的单元型会有较高的频度,但是未发现与*H. pylori*的易感有关联(表3)。

2.4 *H. pylori*感染与IL-8、IL-4、CD14、IL-1β、TNF-α、PTPN11的单核苷酸多态性分析 在本研究中我们还发现IL-8 T-251A等位基因的TA型与*H. pylori*感染有较高的风险,但是未发现具有统计学的意义。我们还发现CD14 C-159T等位基因的CT型对于*H. pylori*的感染具有保护作用(OR = 0.18, 95%CI: 0.03-0.95)。 *H. pylori*感染与IL-4、IL-1β、TNF-α、PTPN11的单核苷酸多态性之间未发现交互作用(表4)。

3 讨论

世界中有50%的人口感染*H. pylori*, 发展中国家的感染率要高于发达国家,有报道显示宿主多是在幼年时期就已经被感染^[22]。甘肃省地处中国西北内陆地区,属于经济欠发达省份。近年来,我们研究发现甘肃省河西地区胃癌的发病率与死亡率均高于全国平均水平,并且在消化性溃疡以及胃癌的患者中发现*H. pylori*的感染率也非常高^[23]。这次我们针对武威市健康人群的*H. pylori*感染进行了调查,发现在健康人中*H. pylori*也有一个较高的感染率,并且发现在*H. pylori*感染的人群中HLA-DQA1*0301有较高的表达,说明DQA1*0301在*H. pylori*感染的过程中扮演了重要的角色。另外,在本研究中我们发现

表 2 甘肃省武威地区健康人群中*H. pylori*感染与HLA-DQA1、DQB1基因多态性的分析

基因型	<i>H. pylori</i> (+) <i>n</i> (%)	<i>H. pylori</i> (-) <i>n</i> (%)	OR ⁴	95%CI ⁴
DQA1				
0601	5(6.6)	4(18.2)	1.00(Ref)	
0101 ¹	6(7.9)	0(0.0)	NC	NC
0103	10(13.2)	3(13.6)	4.27	0.55–33.02
0201	14(18.4)	4(18.2)	4.68	0.63–34.73
0301	28(36.8)	6(27.3)	5.75	1.01–32.77
0401	5(6.6)	3(13.6)	2.68	0.32–22.66
0501	8(10.5)	2(9.1)	5.35	0.58–49.80
DQB1202				
0501	19(25.0)	3(13.6)	1.00(Ref)	
0502	3(3.9)	3(13.6)	0.15	0.02–1.21
0503	44(57.9)	11(50.0)	0.52	0.13–2.17
0504	0(0.0)	0(0.0)	NC	NC
0601	7(9.2)	3(13.6)	0.20	0.03–1.51
0602 ²	3(4.0)	1(4.6)	0.22	0.01–3.48
0604 ³	0(0.0)	1(4.6)	NC	NC
DQB1204				
0301	25(32.9)	9(40.9)	1.00(Ref)	
0201	14(18.4)	6(27.3)	0.77	0.21–2.79
0302	26(34.2)	5(22.7)	1.91	0.54–6.79
0303	1(1.3)	0(0.0)	NC	NC
0304	0(0.0)	0(0.0)	NC	NC
0401	7(9.2)	0(0.0)	NC	NC
0402	3(4.0)	2(9.1)	0.40	0.05–3.16

¹DQA1*0101、*0102具有相同的限制性模式图; ²DQB1*0602、*0603具有相同的限制性模式图;
³DQB1*0604、*0605–6、*0609具有相同的限制性模式图; ⁴OR值与95%CI为性别、年龄经过
Logistic回归分析的调整率. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; NC: 未能计算出.

表 3 甘肃省武威地区健康人群中*H. pylori*感染与HLA-DQA1、DQB1单元型分析

武威地区 单元型	<i>H. pylori</i> (+) <i>n</i> (%)	<i>H. pylori</i> (-) <i>n</i> (%)	OR ¹	95%CI ¹
DQA1*0601–DQB1*0501			1.00(Ref)	
DQA1–0501–DQB1*0501	15(19.7)	2(9.1)	3.03	0.39–23.27
DQA1*0501–DQB1*0502	3(4.0)	3(13.6)	0.40	0.04–3.54
DQA1*0501–DQB1*0503	41(54.0)	10(45.5)	1.42	0.30–6.79
DQA1*0501–DQB1*0601	6(7.9)	3(13.6)	0.48	0.06–3.80
DQA1*0501–DQB1*0602	3(4.0)	1(4.6)	0.56	0.03–9.46
DQA1*0501–DQB1*0301	24(31.6)	8(36.4)	1.25	0.29–5.37
DQA1*0501–DQB1*0201	8(10.5)	5(22.7)	0.56	0.11–2.97
DQA1*0501–DQB1*0302	25(32.9)	5(22.7)	2.04	0.44–9.43

¹OR值与95%CI为性别、年龄经过Logistic回归分析的调整率. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

IL-8 T-251A 基因型的TA型有一个较高的表达, 我们还发现CD14 C-159T等位基因的CT型对*H. pylori*的感染具有保护性作用.

*H. pylori*广泛存在于环境中, 有研究报道在

地表水中可以分离出*H. pylori*^[24], 并且现在认为*H. pylori*是通过粪-口途径传播^[25]. 研究表明某些消化系统疾病与*H. pylori*的菌株有关, 细胞毒素相关蛋白A(CagA)是目前已知的*H. pylori*最重要

■创新盘点
一直以来*H. pylori*的研究都是针对入院的患者, 而世界上50%的人口都是*H. pylori*的携带者. 我们针对胃癌高发地区的健康人群研究*H. pylori*的感染与宿主基因背景的相关性这在该地区还属于首次. 我们的研究对该地区胃癌的防治具有一定的指导意义.

■应用要点

目前临床上都是采用三联抗生素来根除*H. pylori*的感染,但是,除菌治疗后已有不良反应的报道。另外,我们也要面对耐药菌株的产生。因此,我们希望从宿主基因背景入手找寻对*H. pylori*感染抵抗的基因,为基因疫苗的研发提供基础数据。

表 4 甘肃省武威地区健康人群中*H. pylori*感染与IL-8、IL-4、IL-1 β 、CD14、TNF- α 、PTPN11单核苷酸多态性分析

基因型	<i>H. pylori</i> (+) n(%)	<i>H. pylori</i> (-) n(%)	OR ¹	95%CI ¹
IL-8 T-251A				
TT	33(43.4)	13(59.1)	1.00(Ref)	
TA	34(44.7)	6(27.3)	1.86	0.60-5.85
AA	9(11.8)	3(13.6)	0.97	0.22-4.37
TA+AA	43(56.5)	9(40.9)	1.56	0.56-4.33
IL-4 T-33C				
TT	53(69.7)	12(54.6)	1.00(Ref)	
TC	18(23.7)	9(40.9)	0.47	0.17-1.32
CC	5(6.7)	1(4.6)	1.12	0.11-11.1
TC+CC	23(30.4)	10(45.5)	0.53	0.20-1.43
IL-1 β T-31C				
TT	19(25.0)	5(22.7)	1.00(Ref)	
TC	39(51.3)	14(63.6)	0.68	0.21-2.23
TT	18(23.7)	3(13.6)	1.57	0.31-7.87
TC+TT	57(75.0)	17(77.3)	0.53	0.26-2.61
CD14 C-159T				
CC	17(22.4)	2(9.1)	1.00(Ref)	
CT	28(36.8)	15(68.2)	0.18	0.03-0.95
TT	31(40.8)	5(22.7)	0.85	0.14-5.18
CT+TT	59(77.6)	20(90.9)	0.33	0.07-1.66
TNF- α T-1031C				
TT	43(56.6)	12(54.6)	1.00(Ref)	
TC	33(43.3)	10(45.5)	0.88	0.33-2.38
CC	NC	NC	NC	NC
PTPN11 G/A at intron 3				
GG	50(65.8)	11(50.0)	1.00(Ref)	
GA	22(29.0)	9(40.9)	0.58	0.20-1.65
AA	4(5.3)	2(9.1)	0.43	0.07-2.89
GA+AA	26(34.3)	11(50.0)	0.55	0.21-1.47

¹OR值与95%CI为性别、年龄经过Logistic回归分析的调整率。*H. pylori*: 幽门螺杆菌; NC: 未能计算出。IL: 白介素; CD14: 白细胞分化群14; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; PTPN11: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型11。

毒力因子之一^[26]。我们的研究发现即使在同一地区的健康人群中并不是所有人都感染*H. pylori*,说明*H. pylori*的感染与宿主基因背景存在一定的关系。HLA系统是决定疾病易感性个体差异的主要遗传体系,由于HLA系统在免疫调控上的特殊性以及在区别疾病易感基因方面的重要性,标志着HLA系统在*H. pylori*感染中具有重要作用机制。HLA基因的多态性决定了个体间对抗原免疫应答的差异性,而T细胞对抗原的识别又受到HLA分子的调控,在整个免疫应答的过程中,抗原的识别、处理与递呈是免疫反应的关键过程。这一反应过程是通过抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC)、B细胞以及树突状细胞来完成的。胃黏膜上皮细胞一般不表达

或低表达HLA-II类分子,无抗原递呈能力,但在炎症过程中受到某些细胞因子的刺激后也可表达HLA-II类分子并能处理和递呈抗原。在*H. pylori*感染的胃黏膜上皮组织,HLA-II类分子表达明显增高,同时局部的CD4⁺T细胞浸润也明显增多^[27-29]。这些现象说明,*H. pylori*感染的胃黏膜上皮细胞可以通过HLA-II类分子发挥经典APC的作用,从而参与免疫应答的启动与调节。在日本的研究中显示,DQA1*0301的高表达是*H. pylori*感染的萎缩性胃炎的高危因素^[30],在本研究我们的观察对象中*H. pylori*感染的健康人群DQA1*0301也有较高的表达。

IL-8作为中性粒细胞的趋化及活化因子,在*H. pylori*致病中起重要的中介作用。除了*H. pylori*

直接刺激胃上皮细胞IL-8的产生, 炎症局部产生的TNF- α 、转录因子活化的IL-1也能上调IL-8的表达^[6], 而*H. pylori*除了诱导胃上皮细胞表达IL-8, 同时亦刺激胃上皮细胞TNF- α 、IL-1 β 等的表达^[31,32]. 在*H. pylori*感染中, IL-8趋化的中性粒细胞浸润和*H. pylori*空泡毒素引起的上皮损伤可促进黏膜内吞细菌产物, 并诱导黏膜吞噬细胞分泌细胞因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-8等, 一旦中性粒细胞被吸引到感染局部, 中性粒细胞自身便成为致炎性细胞因子的主要来源之一, 中性粒细胞弹性蛋白酶也涉及诱导上皮细胞IL-8基因的表达, 提示中性粒细胞的酶与其释放的细胞因子一样可以诱导一个自身延续性的炎症过程^[6], 而且*H. pylori*诱导的IL-8、IL-1 β 等细胞因子的表达贯穿于*H. pylori*的整个感染期^[32]. 研究发现PTPN11基因编码的Src同源结构域2的蛋白酪氨酸磷酸酶2(srchomology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2, SHP-2)在*H. pylori*感染引起胃上皮细胞变形最终引起胃癌的过程中起到了非常重要的作用, 而且PTPN11的遗传背景显示了一定的种族差异性^[33,12]. IL-4是由CD4⁺ T细胞亚群、B细胞和肥大细胞分泌的多效性细胞因子, 参与炎症反应、黏膜修复、细胞增殖与凋亡等生理病理过程, 其表达水平的变化亦可能影响*H. pylori*感染的致病过程, 导致宿主产生不同的临床结果. *H. pylori*感染引起的非溃疡性胃炎能导致局部产生Th0细胞, 同时分泌大量的细胞因子IL-4, 但是对于消化性溃疡的患者, *H. pylori*感染则可引起Th1细胞的极化^[35]. 有研究认为CD14基因的C/T的突变可能导致CD14启动子的活化增强, 促进CD14基因的转录, 使单核细胞高表达CD14, 且CD14可以调节LPS诱导的IL-1及TNF- α 的分泌, 从而使炎症应答增强^[10,12]. 在我们的研究中未感染*H. pylori*的人群中CD14基因的CT基因型有较高的表达, 说明CD14基因在*H. pylori*感染的免疫应答中具有关键作用.

胃癌的发生、发展是一个复杂的过程, *H. pylori*感染只是引起胃癌的风险因素之一. 除此之外, 还有环境因素、社会因素、宿主基因背景以及生活习惯. 甘肃省武威市地处河西走廊地区, 历史上是丝绸之路的古镇少数民族较多, 本研究只是针对该地区的汉民族健康人群做了调查, 未涉及其他少数民族. 甘肃省河西走廊地区海拔在1000-1500 m之间, 常年干旱少雨, 经济欠发达等因素或许与*H. pylori*的高感染率有关. 目前, 临床上多采用三联疗法根除*H. pylori*

来预防胃癌的发生, 但是, 除菌治疗后耐药菌株的变异以及反复感染也已有报道, 有报道显示, 除菌后返流性食管炎引起的食管癌有增高的趋势^[36]. 因此, 除菌治疗并不是预防胃癌发生的最佳手段.

本研究就甘肃省武威市健康人中*H. pylori*的感染以及参与免疫反应的基因多态性进行了分析, 虽然样本数过少, 可能会导致结果的误差. 但是在河西地区针对健康人*H. pylori*感染的研究也是首次. 另外, 我们的研究为以后的研究提供了基础数据, 并且为*H. pylori*的预防提供新的思考方向.

4 参考文献

- Backert S, Schwarz T, Miehke S, Kirsch C, Sommer C, Kwok T, Gerhard M, Goebel UB, Lehn N, Koenig W, Meyer TF. Functional analysis of the cag pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. *Infect Immun* 2004; 72: 1043-1056 [PMID: 14742552]
- Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-297 [PMID: 11218379]
- Brown LM, Thomas TL, Ma JL, Chang YS, You WC, Liu WD, Zhang L, Pee D, Gail MH. *Helicobacter pylori* infection in rural China: demographic, lifestyle and environmental factors. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 638-645 [PMID: 12055167]
- Kang JY, Wee A, Math MV, Guan R, Tay HH, Yap I, Sutherland IH. *Helicobacter pylori* and gastritis in patients with peptic ulcer and non-ulcer dyspepsia: ethnic differences in Singapore. *Gut* 1990; 31: 850-853 [PMID: 2387503]
- Topalian SL, Rivoltini L, Mancini M, Markus NR, Robbins PF, Kawakami Y, Rosenberg SA. Human CD4⁺ T cells specifically recognize a shared melanoma-associated antigen encoded by the tyrosinase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 9461-9465 [PMID: 7937789]
- Crabtree JE, Wyatt JL, Trejdosiewicz LK, Peichl P, Nichols PH, Ramsay N, Primrose JN, Lindley JJ. Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol* 1994; 47: 61-66 [PMID: 8132812]
- Ellis MK, Zhao ZZ, Chen HG, Montgomery GW, Li YS, McManus DP. Analysis of the 5q31.33 locus shows an association between single nucleotide polymorphism variants in the IL-5 gene and symptomatic infection with the human blood fluke, *Schistosoma japonicum*. *J Immunol* 2007; 179: 8366-8371 [PMID: 18056382]
- Arend WP, Guthridge CJ. Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms. *Ann Rheum Dis* 2000; 59 Suppl 1: i60-i64 [PMID: 11053091]
- El-Omar EM. The importance of interleukin 1beta in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut* 2001; 48: 743-747 [PMID: 11358884]
- Hubacek JA, Rothe G, Pit'ha J, Skodová Z, Staněk V, Poledne R, Schmitz G. C(-260)-->G; T polymor-

■名词解释

人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 系统: 目前所知人体最复杂的多态系统. 自1958年发现第一个HLA抗原, 到20世纪70年代, HLA便成为免疫遗传学、免疫生物学和生物化学等学科的一个重要新兴研究领域. 现在, 已基本弄清其系统的组成、结构和功能, 阐明了其理化性质和生物学作用.

同行评价

本文研究内容非常
有意义, 作者的
数据可信, 但还要
充实。

- phism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99: 3218-3220 [PMID: 10385492]
- 11 Atsuta Y, Ito LS, Oba-Shinjo SM, Uno M, Shinjo SK, Marie SK, Goto Y, Hamajima N. Associations of TNF-A-1031TT and -857TT genotypes with Helicobacter pylori seropositivity and gastric atrophy among Japanese Brazilians. *Int J Clin Oncol* 2006; 11: 140-145 [PMID: 16622749]
- 12 Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the Helicobacter pylori CagA protein. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 688-694 [PMID: 15343275]
- 13 Hamlet AK, Erlandsson KI, Olbe L, Svennerholm AM, Backman VE, Pettersson AB. A simple, rapid, and highly reliable capsule-based 14C urea breath test for diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 1058-1063 [PMID: 8578164]
- 14 Nomura N, Ota M, Tsuji K, Inoko H. HLA-DQB1 genotyping by a modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers. *Tissue Antigens* 1991; 38: 53-59 [PMID: 1683028]
- 15 Teutsch SM, Bennetts BH, Castle M, Hibbins M, Heard RN, Stewart GJ. HLA-DQA1 and -DQB1 genotyping by PCR-RFLP, heteroduplex and homoduplex analysis. *Eur J Immunogenet* 1996; 23: 107-120 [PMID: 8732474]
- 16 Fujihara J, Shiwaku K, Yasuda T, Yuasa I, Nishimukai H, Iida R, Takeshita H. Variation of interleukin 8 -251 A & T polymorphism in worldwide populations and intra-ethnic differences in Japanese populations. *Clin Chim Acta* 2007; 377: 79-82 [PMID: 17020755]
- 17 Togawa S, Joh T, Itoh M, Katsuda N, Ito H, Matsuo K, Tajima K, Hamajima N. Interleukin-2 gene polymorphisms associated with increased risk of gastric atrophy from Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2005; 10: 172-178 [PMID: 15904474]
- 18 Migita K, Maeda Y, Abiru S, Nakamura M, Komori A, Miyazoe S, Nakao K, Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. Polymorphisms of interleukin-1beta in Japanese patients with hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46: 381-386 [PMID: 17126449]
- 19 Hamajima N, Rahimov B, Malikov Y, Abdiev S, Ahn KS, Bahramov S, Kawai S, Nishio K, Naito M, Goto Y. Associations between a PTPN11 polymorphism and gastric atrophy--opposite in Uzbekistan to that in Japan. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9: 217-220 [PMID: 18712962]
- 20 Ishida Y, Goto Y, Kondo T, Kurata M, Nishio K, Kawai S, Osafune T, Naito M, Hamajima N. Eradication rate of Helicobacter pylori according to genotypes of CYP2C19, IL-1B, and TNF-A. *Int J Med Sci* 2006; 3: 135-140 [PMID: 17003844]
- 21 Hamajima N, Saito T, Matsuo K, Kozaki K, Takahashi T, Tajima K. Polymerase chain reaction with confronting two-pair primers for polymorphism genotyping. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 865-868 [PMID: 11011111]
- 22 Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for Helicobacter pylori infection in Peruvian children. Gastrointestinal Physiology Working Group. *Lancet* 1991; 337: 1503-1506 [PMID: 1675369]
- 23 Ke-Xiang Z, Yu-Min L, Xun L, Wen-Ce Z, Yong S, Tao L. Study on the association of COX-2 genetic polymorphisms with risk of gastric cancer in high incidence Hexi area of Gansu province in China. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 649-655 [PMID: 20364406 DOI: 10.1007/s11033-010-0151-x]
- 24 McKeown I, Orr P, Macdonald S, Kabani A, Brown R, Coghlan G, Dawood M, Embil J, Sargent M, Smart G, Bernstein CN. Helicobacter pylori in the Canadian arctic: seroprevalence and detection in community water samples. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1823-1829 [PMID: 10406242]
- 25 Hofman P, Waidner B, Hofman V, Bereswill S, Brest P, Kist M. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2004; 9 Suppl 1: 15-22 [PMID: 15347301]
- 26 Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, Gutierrez O, Saitou N, Kodama T, Osato MS, Kim JG, Ramirez FC, Mahachai V, Graham DY. Helicobacter pylori in North and South America before Columbus. *FEBS Lett* 2002; 517: 180-184 [PMID: 12062433]
- 27 Ishii N, Chiba M, Iizuka M, Watanabe H, Ishioka T, Masamune O. Expression of MHC class II antigens (HLA-DR, -DP, and -DQ) on human gastric epithelium. *Gastroenterol Jpn* 1992; 27: 23-28 [PMID: 1555745]
- 28 Brandtzaeg P, Halstensen TS, Huitfeldt HS, Krajci P, Kvale D, Scott H, Thrane PS. Epithelial expression of HLA, secretory component (poly-Ig receptor), and adhesion molecules in the human alimentary tract. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 664: 157-179 [PMID: 1456647]
- 29 El Kaissouni J, Bene MC, Faure GC. Activation of epithelial cells in gastritis. *Digestion* 1998; 59: 53-59 [PMID: 9468099]
- 30 Azuma T, Ito Y, Miyaji H, Dojyo M, Tanaka Y, Hirai M, Ito S, Kato T, Kohli Y. Immunogenetic analysis of the human leukocyte antigen DQA1 locus in patients with duodenal ulcer or chronic atrophic gastritis harbouring Helicobacter pylori. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7 Suppl 1: S71-S73 [PMID: 8574742]
- 31 Takagi A, Kamiya S, Koga Y, Ohta U, Kobayashi H, Shirai T, Harasawa S, Miwa T. Analysis of interleukin-8 secretion induced by Helicobacter pylori from the gastric epithelial cell line MKN45: a mechanism independent of the intensity of cytotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 368-372 [PMID: 9195382]
- 32 Jung HC, Kim JM, Song IS, Kim CY. Helicobacter pylori induces an array of pro-inflammatory cytokines in human gastric epithelial cells: quantification of mRNA for interleukin-8, -1 alpha/beta, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, monocyte chemoattractant protein-1 and tumour necrosis factor-alpha. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 473-480 [PMID: 9257236]
- 33 Odenbreit S, Püls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of Helicobacter pylori CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000; 287: 1497-1500 [PMID: 10688800]
- 34 Israel DA, Peek RM. pathogenesis of Helicobacter pylori-induced gastric inflammation. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1271-1290 [PMID: 11552897]
- 35 Netea MG, Kullberg BJ, van der Meer JW. Lipopolysaccharide-induced production of tumour necrosis factor and interleukin-1 is differentially regulated at the receptor level: the role of CD14-dependent and

- CD14-independent pathways. *Immunology* 1998; 94: 340-344 [PMID: 9767415]
- 36 Qian B, Ma S, Shang L, Qian J, Zhang G. Effects of

Helicobacter pylori eradication on gastroesophageal reflux disease. *Helicobacter* 2011; 16: 255-265 [PMID: 21762264 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00846.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

柳州地区幽门螺杆菌对抗菌药物的耐药性

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

■背景资料

近年来幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除率明显下降, 而*H. pylori*对抗生素耐药是其根除失败的主要原因, 不同地区、不同人群对抗生素的耐药性不同, 因此, 掌握本地区*H. pylori*耐药情况, 并分析不同人群对耐药的影响, 对临床医师有针对性的调整治疗方案、提高*H. pylori*根除率有重要意义。

罗宜辉, 潘美云, 练海燕, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006

刘代华, 广西科技大学附属柳州市人民医院药剂科 广西壮族自治区柳州市 545006

罗宜辉, 主治医师, 主要从事幽门螺杆菌的临床研究。

广西柳州市应用技术与开发计划基金资助项目, No.

2010030711

广西壮族自治区卫生厅科研基金资助项目, No. Z2010053

作者贡献分布: 罗宜辉与刘代华对此文做出主要贡献; 此课题由罗宜辉与刘代华设计; 研究过程由罗宜辉、潘美云及练海燕操作完成; 数据分析由刘代华完成; 本论文写作由罗宜辉与刘代华完成。

通讯作者: 罗宜辉, 主治医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科2病区。lyh145@aliyun.com

电话: 0772-2662769

收稿日期: 2013-07-25 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-28

Analysis of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Liuzhou, China

Yi-Hui Luo, Dai-Hua Liu, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian

Yi-Hui Luo, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Dai-Hua Liu, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Applied Technology Research and Development of Liuzhou Science and Technology Bureau, No. 2010030711; the Scientific Research Project of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Z2010053

Correspondence to: Yi-Hui Luo, Attending Physician, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, the Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyh145@aliyun.com

Received: 2013-07-25 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-28

Abstract

AIM: To analyze the antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in different populations in Liuzhou.

METHODS: Patients who underwent gastroscopy at our hospital from 2011 to 2012 and were positive for the rapid urease test were chosen to conduct *H. pylori* culture. The cul-

tured *H. pylori* were tested for sensitivity to amoxicillin, levofloxacin, metronidazole, clarithromycin, tetracycline and furazolidone using the Kirby-Bauer method. Factors possibly affecting antibiotic resistance were analyzed, including gastroscopic diagnosis, age, gender, residence, eating habits, history of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) administration, treatment of *H. pylori* infection, and history of antibacterial drug exposure over the past 3 mo.

RESULTS: Gastric mucosa samples were taken for culture of *H. pylori* in 394 patients, and *H. pylori* was cultured successfully in 300 patients. There was no strain resistant to tetracycline or furazolidone. The rates of amoxicillin, levofloxacin, metronidazole and clarithromycin resistance were 8.00%, 6.67%, 87.33% and 40.33%, respectively. Amoxicillin resistance was associated with age ($P < 0.01$) and treatment of *H. pylori* infection ($P < 0.05$). Metronidazole resistance was associated with age and residence (both $P < 0.05$). Clarithromycin resistance was associated with treatment of *H. pylori* infection ($P < 0.01$) and history of antibacterial drug exposure over the past 3 mo ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Resistance of *H. pylori* to different antibiotics was observed in Liuzhou, which correlates with various factors.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotic resistance; Metronidazole; Amoxicillin; Alarithromycin

Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY. Analysis of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Liuzhou, China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(30): 3314-3318
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3314.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3314>

摘要

目的: 分析柳州地区不同人群幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)耐药情况。

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

方法: 2011-2012年在我院胃镜检查的快速尿素酶试验阳性患者, 取胃窦黏膜培养, 培养成功的*H. pylori*用阿莫西林、左氧氟沙星、甲硝唑、克拉霉素、四环素和呋喃唑酮药敏纸片进行药敏试验, 分析患者胃镜诊断、年龄、性别、长期居住地、饮食习惯、非甾体类消炎药用药史、抗*H. pylori*治疗经历、近3 mo抗菌药物用药史与*H. pylori*对不同抗菌药物耐药的影响。

结果: 共取394例患者胃黏膜培养, 培养成功300例。未发现四环素和呋喃唑酮耐药株, 对阿莫西林、左氧氟沙星、甲硝唑和克拉霉素的耐药率分别为8.00%、6.67%、87.33%和40.33%。不同年龄($P<0.01$)和不同抗*H. pylori*治疗经历($P<0.05$)的阿莫西林耐药率有差别; 不同年龄($P<0.05$)和长期居住地($P<0.05$)的甲硝唑耐药率有差别; 不同抗*H. pylori*治疗经历($P<0.01$)和近3 mo抗菌药物用药史($P<0.05$)的克拉霉素耐药率有差别。

结论: 柳州地区*H. pylori*对不同抗菌药物呈现不同的耐药性, 且与多种因素相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 耐药; 甲硝唑; 阿莫西林; 克拉霉素

核心提示: 柳州地区幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对甲硝唑、克拉霉素耐药率较高, 对阿莫西林、左氧氟沙星耐药率较低, 未发现四环素和呋喃唑酮耐药株。而不同年龄、抗*H. pylori*治疗经历、长期居住地、近3 mo抗菌药物用药史等因素明显影响*H. pylori*的耐药状况。

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕. 柳州地区幽门螺杆菌对抗菌药物的耐药性. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3314-3318
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3314.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i30.3314>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等疾病的重要致病因素^[1], 并被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)列为 I 类致癌因^[2], 根除*H. pylori*对上述疾病的治疗有重要价值, 但随着*H. pylori*耐药率不断增加, 其根除率明显下降^[3], 我们的前期调查发现我院含质子泵抑制剂的标准三联疗法对*H. pylori*根除率仅为72.88%左右, 与理想的*H. pylori*根除方案(根除率>90%等)相差甚远^[4]。

监测本地区*H. pylori*的耐药情况, 对临床医师调整根治方案、提高根除率、促进抗菌药物的合理使用有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究经我院伦理委员会讨论同意, 选取2011-01/2012-05在我院胃镜室行胃镜检查的患者, 检查前获得患者的知情同意。

1.2 方法

1.2.1 患者信息收集: 准备进行胃黏膜培养的患者, 待胃镜结束后进行问卷调查。主要包括患者长期居住地(近3年)、饮食习惯(是否喜食酸笋-柳州当地一种特色饮食)、非甾体类消炎药用药史(询问患者有无慢性疼痛病史和用药史)、抗*H. pylori*治疗经历(按治疗经历分为新发-从未经过抗*H. pylori*治疗, 再燃-上次治疗结束60 d内再发, 重感染-上次治疗结束60 d后再发)、近3 mo抗菌药物用药史(询问患者近3 mo有无感染性疾病及治疗经过)。

1.2.2 胃黏膜标本获取: 胃镜检查时先钳取胃窦黏膜1块, 进行快速尿素酶试验(福建三明市安信生物技术有限公司, 批号: 20110801), 阳性者于胃窦部取第2块放入无菌生理盐水中, 2 h内至无菌操作台中接种。

1.2.3 *H. pylori*培养: 将胃黏膜剪碎后倒入培养皿中, 立即倒入50 °C保温的哥伦比亚-脑心浸液培养基(按1000 mL: 30 g: 12 g分别加入纯水、哥伦比亚培养基[友康基业生物科技(北京)有限公司, 批号: DO5110901]和脑心浸液培养基(青岛高科园海博生物技术有限公司), 摇匀, 121 °C高压灭菌15 min后取出, 放入50 °C的恒温水浴锅中, 按体积加入8%脱纤维绵羊血(广州蕊特生物科技有限公司, 批号: 110916)和培养添加剂[甲氧苄氨嘧啶、多黏菌素、万古霉素, 友康基业生物科技(北京)有限公司, 批号: SM1108](按1000 mL培养基中加入1瓶抗生素的比例添加), 轻轻摇匀, 避免气泡产生。待培养基凝固后将培养皿放入微需氧培养缸中, 35 °C的恒温培养3-5 d。

1.2.4 *H. pylori*的鉴定: 选取针尖样、透明湿润的菌落, 革兰氏染色(广东环凯微生物科技有限公司, 批号: 11081101P)为红色, 快速尿素酶法(福建三明市安信生物技术有限公司, 批号: 20110801)、氧化酶法(广东环凯微生物科技有限公司, 批号: 11070801P)和过氧化氢酶法(广东环凯微生物科技有限公司, 批号: 11042201P)均阳性者为*H. pylori*。

■研究前沿

不同地区、不同人群对抗生素的耐药性不同, 年龄、性别、长期居住地、饮食习惯、非甾体类消炎药用药史、抗*H. pylori*治疗经历、近期抗菌药物用药史等因素均可能影响*H. pylori*的耐药性。

■相关报道

在国内, 北京、上海、西安、广东、石家庄、沈阳、浙江舟山、温州、海南等地区都对*H. pylori*的耐药性进行了监测, 整体来看甲硝唑耐药率最高, 其次是克拉霉素, 阿莫西林耐药率较低。

■创新盘点

本研究首次调查了柳州地区 *H. pylori* 对抗生素的耐药情况并全面评估了年龄、性别、长期居住地、饮食习惯、非甾体类消炎药用史、抗 *H. pylori* 治疗经历、近期抗菌药物药用史等因素对 *H. pylori* 耐药性的影响。

表 1 柳州地区2011-2012年幽门螺杆菌耐药情况

	四环素	阿莫西林	呋喃唑酮	左氧氟沙星	甲硝唑	克拉霉素
耐药例数(<i>n</i>)	0	24	0	20	262	121
耐药率(%)	0.00	8.00	0.00	6.67	87.33	40.33

1.2.5 药敏试验: 将 *H. pylori* 传代至M-H琼脂[友康基业生物科技(北京)有限公司, 批号: DM0301], 接种浓度为 0.5×10^9 CFU/mL (1麦氏浊度), 待细菌涂层干燥后, 贴上抗生素药敏纸片。四环素(30 μ g, 批号: 110823), 阿莫西林(10 μ g, 批号: 110801), 呋喃唑酮(100 μ g, 批号: 110908), 左氧氟沙星(5 μ g, 批号: 110811), 甲硝唑(5 μ g, 批号: 110801)和克拉霉素(15 μ g, 批号: 110908)。药敏纸片购自杭州微生物试剂有限公司。培养24 h, 用游标卡尺测量抑菌环的直径。

1.2.6 药敏结果判断: 根据美国临床实验室标准化研究所制定的《抗菌药物纸片法敏感性试验的实施标准》, 采用抑菌环直径四环素 \geq 20 mm, 呋喃唑酮 \geq 15 mm, 阿莫西林 \geq 14 mm, 左氧氟沙星 \geq 13 mm, 甲硝唑 \geq 21 mm, 克拉霉素 \geq 14 mm定为耐药。

统计学处理 采用SPSS19.0, 计数资料用%表示, 各组耐药率的组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *H. pylori* 耐药情况 收集394例患者胃窦黏膜进行 *H. pylori* 培养, 300例培养成功。 *H. pylori* 药敏试验结果显示, 四环素和呋喃唑酮未发现耐药株, 甲硝唑耐药率最高(87.33%)(表1)。

2.2 不同因素对 *H. pylori* 耐药的影响 不同年龄组阿莫西林和甲硝唑耐药率、不同长期居住地组甲硝唑耐药率、不同抗 *H. pylori* 治疗经历组阿莫西林和克拉霉素耐药率及不同近3 mo抗菌药物药用史组克拉霉素耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$)。而不同性别、饮食习惯、NSAIDs类药物药用史及胃镜诊断未发现耐药率有差异(表2)。

3 讨论

H. pylori 对抗生素耐药是其根除失败的主要原因^[5], 监测 *H. pylori* 耐药情况并适时调整治疗方案是提高 *H. pylori* 根除率的关键^[6]。但个体化监测 *H. pylori* 耐药成本高, 耗费时间长, 临床实施可行性有限, 因此, 掌握本地区 *H. pylori* 耐药情况, 并分析不同人群对耐药的影响, 对临床调整

治疗方案有重要意义。

第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告^[7]中指出, 我国 *H. pylori* 成人感染率达到40%-60%, 推荐的6种抗菌药物中, 甲硝唑耐药率为60%-70%, 克拉霉素为20%-38%, 左氧氟沙星为30%-38%, 而阿莫西林、呋喃唑酮和四环素的耐药率较低, 为1%-5%。我们的研究结果提示柳州地区抗菌药物耐药率与全国基本相似, 但是左氧氟沙星耐药率较低(6.67%), 而甲硝唑耐药率(87.33%)则明显较高。左氧氟沙星耐药与既往10年氟喹诺酮用药史有关^[8], 文献表明我国各地区 *H. pylori* 对左氧氟沙星耐药情况差别较大^[9]。柳州地区甲硝唑的耐药率较高, 可能与本地区甲硝唑仍广泛应用于妇科、口腔科、外科手术中的抗厌氧菌治疗有关。同样是西部地区的重庆甲硝唑耐药率达91.67%^[10], 与我们的研究结果接近。克拉霉素随着临床的广泛应用, 近年来其耐药率逐年上升, 由于其他大环内酯类药物如红霉素、阿奇霉素等与克拉霉素存在交叉耐药, 前者的广泛应用也是导致 *H. pylori* 对克拉霉素耐药的原因之一。有报道称 *H. pylori* 根除失败主要与克拉霉素和甲硝唑的高耐药有关^[11], 我们的研究显示柳州地区甲硝唑和克拉霉素耐药率均较高, 而我院克拉霉素使用量仍居前列, *H. pylori* 根除率则为72.88%, 故在 *H. pylori* 根除治疗中需减少克拉霉素及甲硝唑的使用。

H. pylori 对不同抗菌药物耐药受多种因素影响, 如何根据不同人群选择最佳方案是本研究的关注点, 我们的结果提示随着年龄的增加, 阿莫西林耐药率逐渐增加, 老年患者耐药率达81.08%, 因而老年患者应尽量避免选用阿莫西林。抗 *H. pylori* 治疗经历也会影响 *H. pylori* 对阿莫西林的耐药, 因而对于有多次抗 *H. pylori* 治疗史的患者, 也应该考虑避免阿莫西林的使用。本研究纳入调查的各种因素对左氧氟沙星耐药率未见明显影响, 而且其耐药率较低(6.67%), 提示选用左氧氟沙星可能在不同人群均能获得较好的疗效。Gluczynski等^[12]发现 *H. pylori* 对甲硝唑的耐药率女性高于男性, 认为可能与甲硝唑广泛应用于妇科疾病治疗, 导致细菌的硝基还原

表 2 不同因素对幽门螺杆菌耐药的影响 $n(\%)$

	阿莫西林		左氧氟沙星		甲硝唑		克拉霉素	
	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感
年龄(岁)								
14-29	0	15	0	15	11(73.33)	4	7(46.67)	8
30-44	4(4.17)	92	11(11.46)	85	86(89.58)	10	44(45.83)	52
45-59	14(12.17)	101	7(6.09)	108	106(92.17)	9	45(39.13)	70
60-86	60(81.08)	14	2(2.70)	72	59(79.73)	15	25(33.78)	49
χ^2 值	28.000	6.545	9.400	2.845				
P 值	0.000	0.088	0.024	0.416				
性别								
男	9(5.88)	144	11(7.19)	142	134(87.58)	19	63(41.18)	90
女	15(10.20)	132	9(6.12)	138	128(87.07)	19	58(39.46)	89
χ^2 值	1.361	0.019	0.000	0.035				
P 值	0.243	0.890	1.000	0.852				
长期居住地								
城市	15(7.81)	177	11(5.73)	181	162(84.38)	30	78(40.63)	114
郊区	4(10.26)	35	3(7.69)	36	34(87.18)	5	11(28.21)	28
乡村	5(7.25)	64	6(8.70)	63	66(95.65)	3	32(46.38)	37
χ^2 值	0.332	0.794	7.024	3.438				
P 值	0.847	0.672	0.030	0.179				
饮食习惯								
喜食酸笋	12(8.96)	122	5(3.73)	129	118(88.06)	16	57(42.54)	77
不嗜酸笋	12(7.23)	154	15(9.04)	151	144(86.75)	22	64(38.55)	102
χ^2 值	0.300	3.353	0.116	0.489				
P 值	0.584	0.067	0.734	0.484				
NSAIDs类药物用药史								
经常	6(10.91)	49	3(5.45)	52	49(89.09)	6	21(38.18)	34
偶尔或从不	18(7.35)	227	17(6.94)	228	213(86.94)	32	100(40.82)	145
χ^2 值	0.774	0.159	0.188	0.130				
P 值	0.379	0.690	0.665	0.719				
抗幽门螺杆菌治疗经历								
新发	3(2.70)	108	9(8.11)	102	97(87.39)	14	53(47.75)	58
再燃	12(9.52)	114	8(6.35)	118	109(86.51)	17	59(46.83)	67
重感染	9(14.29)	54	3(4.76)	60	56(88.89)	7	9(14.29)	54
χ^2 值	8.012	0.758	0.216	22.504				
P 值	0.018	0.684	0.898	0.000				
近3 mo抗菌药物用药史								
是	13(8.02)	149	9(5.56)	153	140(86.42)	22	54(33.33)	108
否	11(7.97)	127	11(7.97)	127	121(87.68)	17	66(47.83)	72
χ^2 值	0.000	0.699	0.105	6.522				
P 值	0.986	0.403	0.746	0.011				
内镜诊断								
胃炎	12(6.12)	184	13(6.63)	183	168(85.71)	28	82(41.84)	114
胃或/和球部	11(10.89)	90	7(6.93)	94	91(90.10)	10	39(38.61)	62
溃疡								
胃癌	1(33.33)	2	0	3	3(100)	0	0	3
χ^2 值	2.122	0.226	1.598	2.336				
P 值	0.145	0.893	0.450	0.311				

■应用要点

本研究对本地区的临床医师如何合理选择*H. pylori*根除治疗方案、提高根除率具有很好的参考和指导意义, 对其他地区的临床决策和科研具有参考和借鉴价值。

酶 $rdxA$ 及 $firxa$ 基因突变有关^[13]。但本研究结果提示甲硝唑的耐药率在男女人群间不存在显著差

异, 可能与种族、地区差异有关, 也可能与本研究样本量较少有关。本研究发现影响甲硝唑耐

■同行评价

本文有较好的科学性和可读性,实用性较强,结果对临床医师如何更有效的选择根除*H. pylori*药物,提高*H. pylori*根除率有重要的参考和指导意义。

药率的因素主要为年龄和长期居住地,中年和乡村患者对甲硝唑耐药率更高,可能与不同的用药习惯和该人群接触甲硝唑多少有关。文献报道*H. pylori*对克拉霉素耐药与患者年龄、性别及所患胃肠疾病没有明显关系^[14],与本研究结果一致。Yakoob等^[15]对120例患者进行1年的跟踪调查发现,对克拉霉素耐药率高的患者*H. pylori*根除成功后复发率较低,这与我们报道的重感染患者克拉霉素耐药率低一致。

总之,我们的研究显示柳州地区*H. pylori*对甲硝唑、克拉霉素耐药率较高,对阿莫西林、左氧氟沙星耐药率较低,同时,我们发现不同年龄、既往抗*H. pylori*治疗经历、长期居住地、近3 mo抗菌药物用药史等因素明显影响*H. pylori*对抗生素的耐药状况,提示临床医师应根据不同患者的特点,个体化的选择抗菌药物以提高*H. pylori*的根除率。此外,我们的研究表明本地区尚无四环素和呋喃唑酮耐药株存在,提示其可能是难治性*H. pylori*感染的有效选择。

4 参考文献

- 1 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染诊疗指南. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 20-35
- 2 Mohammadi M, Kashani SS, Garoosi YT, Tazehkand SJ. In vivo measurement of *Helicobacter pylori* infection. *Methods Mol Biol* 2012; 921: 239-256 [PMID: 23015509]
- 3 Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. A report card to grade *Helicobacter pylori* therapy. *Helicobacter* 2007; 12: 275-278 [PMID: 17669098]
- 4 Gatta L, Vakil N, Vaira D, Scarpignato C. Global eradication rates for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of sequential therapy. *BMJ* 2013; 347: f4587 [PMID: 23926315]
- 5 成虹, 胡伏莲, 李江. 幽门螺杆菌耐药性对其根除治疗的影响. *中华医学杂志* 2006; 86: 2679-2682
- 6 辛晓梅, 丁士刚. 幽门螺杆菌根除治疗失败后对策研究进展. *胃肠病学* 2011; 16: 572-574
- 7 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组/全国幽门螺杆菌研究协作组. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *中华内科杂志* 2012; 5: 832-837
- 8 Carothers JJ, Bruce MG, Hennessy TW, Bensler M, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Parkinson AJ, Coleman JM, McMahon BJ. The relationship between previous fluoroquinolone use and levofloxacin resistance in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Infect Dis* 2007; 44: e5-e8 [PMID: 17173210]
- 9 胡伏莲. 中国幽门螺杆菌耐药研究现状. *胃肠病学和肝病杂志* 2008; 17: 517-518
- 10 罗红春, 吕琳, 杨致邦, 梅浙川. 重庆地区幽门螺杆菌对甲硝唑的耐药性和耐药机制的研究. *中国抗生素杂志* 2008; 23: 499-502
- 11 Iwańczak F, Iwańczak B. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in the aspect of increasing antibiotic resistance. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 671-680 [PMID: 23356205]
- 12 Glupczynski Y, Mégraud F, Lopez-Brea M, Andersen LP. European multicentre survey of in vitro antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 820-823 [PMID: 11783701]
- 13 Marais A, Bilardi C, Cantet F, Mendz GL, Mégraud F. Characterization of the genes *rdxA* and *frxA* involved in metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Res Microbiol* 2003; 154: 137-144 [PMID: 12648728]
- 14 郑小丽, 胡伏莲, 王蔚虹, 成虹. 北京地区幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药情况及其耐药机制. *中华医学杂志* 2001; 81: 1413-1415
- 15 Yakoob J, Abid S, Jafri W, Abbas Z, Mumtaz K, Hamid S, Ahmed R. Low rate of recurrence of *Helicobacter pylori* infection in spite of high clarithromycin resistance in Pakistan. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 33 [PMID: 23433429]

编辑 田滢 电编 闫晋利



贲门癌合并胃肠道间质瘤3例

陈慧, 詹俊, 刘思齐

陈慧, 詹俊, 刘思齐, 中山大学孙逸仙纪念医院消化内科 广东省广州市 510120

陈慧, 硕士, 主要从事大肠癌的诊断和治疗及药物性肝病的研究。
作者贡献分布: 病例收集由陈慧与刘思齐完成; 论文写作由陈慧完成; 詹俊负责指导和修改论文

通讯作者: 詹俊, 主任医师, 硕士生导师, 510120, 广东省广州市沿江西路107号, 中山大学孙逸仙纪念医院消化内科。

zjds663@163.com

电话: 020-37595248

收稿日期: 2013-08-01 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-28

Synchronous cardiac cancer and gastrointestinal stromal tumor in the stomach: Report of three cases

Hui Chen, Jun Zhan, Si-Qi Liu

Hui Chen, Jun Zhan, Si-Qi Liu, Department of Gastroenterology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China
Correspondence to: Jun Zhan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, 107 Yanjiang West Road, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China. zjds663@163.com

Received: 2013-08-01 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-28

Abstract

Synchronous occurrence of epithelial and gastrointestinal stromal tumors (GISTs) in the stomach is uncommon. GISTs are often detected incidentally on the gastric mucosa or serosa, or occasionally intramurally, during surgery or by gastroscopy for other reasons. It is unknown whether such an association is a simple incidental coexistence or whether the two lesions are connected by a causal relationship. In this article, we report three cases of synchronous stromal tumor and cardiac adenocarcinoma incidentally detected in the stomach in three elderly patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal stromal tumor; Cardiac cancer

Chen H, Zhan J, Liu SQ. Synchronous cardiac cancer

and gastrointestinal stromal tumor in the stomach: Report of three cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(30): 3319-3322 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3319>

摘要

胃里同时发生上皮来源性肿瘤和胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)比较罕见, 此时GIST经常在手术或胃镜检查过程中发现在胃黏膜和浆膜, 偶尔在胃体内。这种现象是两种病变简单的共存还是存在某种因果关系目前不太明确。本文报道3例胃贲门腺癌患者同时存在胃肠道间质瘤。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道间质瘤; 贲门癌

核心提示: 3例胃贲门癌合并胃肠道间质瘤的临床病理特征及治疗预后, 结合相关文献进行讨论, 推测可能的病因学。

陈慧, 詹俊, 刘思齐. 贲门癌合并胃肠道间质瘤3例. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 3319-3322 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.3319>

0 引言

胃里同时发生上皮来源性肿瘤和胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)比较罕见, GIST经常在手术或胃镜检查过程中发现在胃黏膜和浆膜, 偶尔在胃体内。许多学者对此提出了各种假设, 是两种病变简单的共存还是存在某种因果关系目前不太明确。本文报道3例胃贲门腺癌患者同时存在胃肠道间质瘤, 并根据报道的病例进行讨论。

1 病例报告

病例1: 男, 77岁。因吞咽不适7 mo, 进硬食明显, 流质稍可缓解, 当地医院胃镜检查怀疑贲门癌可能, 为进一步诊治入我院。实验室检查未见明显异常。消化系钡餐示: 食管下段、贲门处狭

■背景资料

因胃癌等疾病行胃及相关淋巴结切除, 术后送检病理组织偶然发现胃肠道及肠系膜间质瘤。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研究前沿

本文对上皮源性肿瘤和间质源性肿瘤同时发生于胃进行报道和讨论, 亟待研究此现象是两种病变是偶然的共存还是存在某种联系。

窄, 黏膜紊乱, 部分中断, 并隐约可见软组织肿块, 其以上食管较为扩张, 高度怀疑贲门癌并少许狭窄。胃镜示: 距切齿40 cm贲门处见环壁生长肿物, 表面糜烂溃疡, 质硬脆, 贲门稍狭窄。于全麻下行食管下段(主动脉弓下约3 cm)-部分胃(距贲门约3 cm)切除术, 术中见贲门4 cm×4 cm×3 cm大小肿物, 实性, 无外侵, 腹膜无淋巴结转移。术后病理回报: (1)贲门小块黏膜组织, 腺上皮重度不典型增生及癌变, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)(-). (2)胃贲门癌(分化较好), 浸润至外层及食管全层, 小弯侧淋巴结转移。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、谷胱甘肽S-转移酶(π)(glutathione S-transferase- π , GST- π)、肝细胞生长因子受体(C-Met)均(-)。距贲门5 cm处胃体另见一0.7 cm×0.3 cm×0.3 cm大小的肿物, CD117、CD34均(+), 肌间线蛋白(Desmin)、肌动蛋白(Actin)、S-100蛋白(S-100)、增殖细胞核抗原(Ki-67)均(-), 符合胃肠道间质瘤。

病例2: 男, 56岁。因进食哽咽感伴上腹不适半年, 当地医院以“慢性胃炎、胃肠道功能紊乱”予对症处理, 症状无缓解, 为进一步诊治入我院。实验室检查示血CEA、CA199升高。腹部CT示: 贲门、胃底区域可见管壁增厚, 增厚呈偏心性, 病灶同周围脂肪间隙存在。胃镜示: 距切齿40 cm, 食管下段-贲门-部分胃底区见绕壁生长肿物, 长约4.5 cm, 表面菜花样, 质硬、脆, 有自发及接触性出血。患者在全麻下行贲门癌根治术(食管下段、部分胃切除术, 食管与残胃吻合术), 术中见胃底贲门肿物, 大小约4 cm×4 cm×4 cm, 下段食管旁、贲门旁、胃左动脉旁可见较多肿大淋巴结。病理结果回报: 贲门腺癌(分化较好), 浸润外层, 侵犯周围神经组织, 贲门旁、胃大弯、大网膜、胃左动脉、胃小弯、贲门淋巴结转移。合并胃肠道间质瘤, 肿物直径约0.4 cm, CD34、CD117(+), EGFR(-), GST- π (+), 肿瘤免疫组织化学: Ki-67(+), Desmin、Actin、S-100(-), 诊断(1)贲门癌。(2)胃肠道间质瘤。术后予洛铂、艾素、5-氟尿嘧啶、CF化疗, 术后复查无复发。

病例3: 男, 73岁, 因柏油样便伴头晕10 d, 外院胃镜提示贲门溃疡恶变。病理: 贲门黏膜鳞状上皮及腺上皮呈慢性炎, 可见少数细胞癌变。我院CT示: 贲门壁增厚, 约1.6 cm, 考虑贲门癌可能。患者在全麻下行全胃切除术+P型空肠代胃, 术中见胃底3 cm×2 cm×2 cm肿物, 浸润肌层,

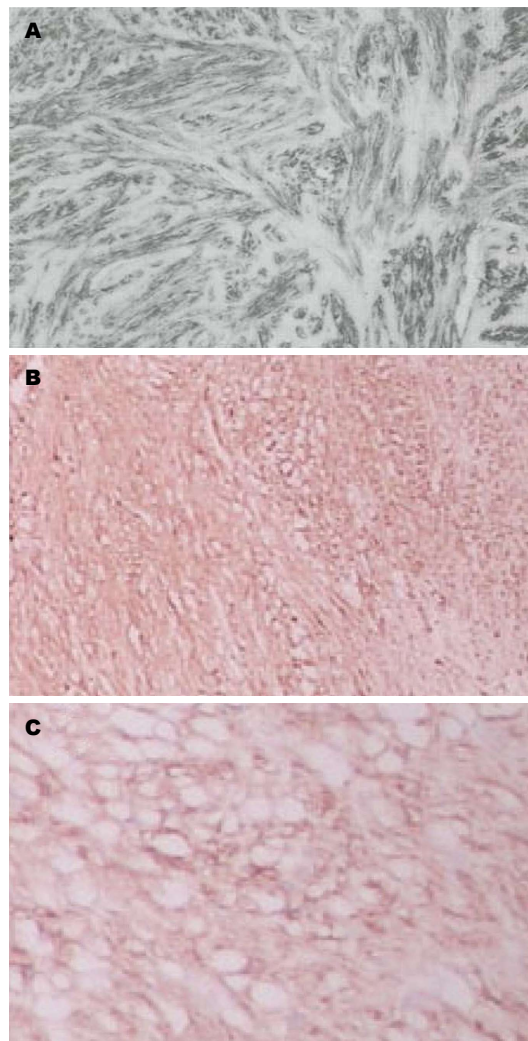


图1 胃肠道间质瘤相关免疫学指标阳性图。A: CD34弥漫性强阳性(HE染色×40); B: CD117阳性(HE染色×200); C: dog1(+)阳性(HE染色×200)。

未侵及浆膜层, 胃小弯、幽门上可见多个肿大淋巴结, 与毗邻组织无粘连。病理结果回报: 贲门小块组织为低分化腺癌, 浸润肌层, *cerb-2*(-)。送检的一淋巴结组织中见0.6 cm及0.3 cm结节状梭形细胞肿瘤, 符合胃肠道间质瘤, 免疫组织化学示, CD34(+)(图1A)、CD117(+)(图1B), *dog1*(+)(图1C), Actin、S-100(-), Vimentin(+).

2 讨论

GIST是属于消化系间叶源性肿瘤, 可能起源于幼稚间充质细胞向卡哈尔(Cajal)间质细胞(胃肠道起搏细胞)分化。免疫表型上表达*c-Kit*基因蛋白产物(CD117), 由突变的*c-Kit*基因和*PDGFR- α* 基因驱动。可发生于全消化系, 好发部位依次为胃(60%-70%)、小肠(25%-35%)、大肠和阑尾(5%)及食管(2%-3%), 少数(<5%)可发生于胃肠道外, 包括网膜、肠系膜及腹膜后等^[1]。组织学

■相关报道

既往胃肠道间质瘤和贲门癌、结肠癌、肺癌、肾癌、食管癌共存的报道, 并对两种肿瘤共存的现象进行各种可能的假设。

上GIST的肿瘤细胞主要有梭形细胞和上皮样细胞两种形态,肿瘤组织可由梭形细胞或上皮样细胞为主或由两种细胞共同组成。根据GIST的生物学行为可分为良性(无恶性指标)、潜在恶性(具备1项潜在恶性指标)和恶性(具备1项肯定恶性或2项以上潜在恶性指标)。肯定恶性指标:(1)远处转移(经组织学证实);(2)浸润邻近器官。潜在恶性指标:(1)胃间质瘤>5.5 cm,肠间质瘤>4.0 cm;(2)胃间质瘤核分裂象>1/10高倍视野(high power field, HPF),肠间质瘤只要出现核分裂象;(3)肿瘤中心坏死明显;(4)核异型性大;(5)细胞密度大;(6)镜下可见黏膜固有层或血管的浸润;(7)上皮样间质中出现腺泡状结构。GIST的免疫组织化学主要标志为:c-Kit(CD117)、CD34及PDGFR- α ,有条件者应进一步检测基因突变型。其他免疫组织化学指标如SMA、S-100、Actin、Vimentin在GIST中的表达率低,特异性不高^[2]。外科手术切除至今仍是GIST治疗的主要手段,最新进展是伊马替尼(小分子选择性蛋白络氨酸激酶抑制剂)与手术的联合治疗,这种联合治疗可明显提高治疗效果,延长生存期。对术前已有多处转移或难以完整切除的GIST,可以先用伊马替尼治疗,寻求手术机会;恶性潜能高的GIST可于术后以伊马替尼辅助治疗,可减少术后复发率和转移率,姑息切除者有条件应长期服用伊马替尼,至于术后应持续服用多久为宜,尚无定论^[3]。

胃肠道间质瘤合并其他上皮性恶性肿瘤的报道逐渐增多,陈丽荣^[4]曾报道103例胃肠道间质瘤中8例合并原发器官或邻近器官的上皮性恶性肿瘤,其中胃癌3例;Gonçalves等^[5]发现101例胃肠道间质瘤中13.8%同时发生其他肿瘤,胃腺癌最多见(约28.5%)。既往有报道胃肠道间质瘤合并发生结直肠腺癌、原发性肝癌、肺腺癌、乳状头肾母细胞瘤^[6-9]。Liu等^[10]报道,上皮性恶性肿瘤伴随的胃肠道间质瘤体积小,90.7%危险度极低。但Zhou等^[11]报道过一例胃肠间质瘤同时合并食管鳞癌、胃底腺癌的病例,患者胃肠道间质瘤体积直径即>5 cm,被认为是潜在恶性,除对食管鳞癌、胃底腺癌行手术根治术后,建议患者予伊马替尼治疗。Kawanowa等^[12]报道过100例因过胃癌切除的全胃标本中发现镜下胃肠道间质瘤达35%。

胃腺癌是世界范围类第二常见的肿瘤,而自从70年代以来,胃贲门癌呈上升趋势。贲门癌大多数情况下可能侵犯食管下段及胃底、胃体等,

腹腔淋巴结转移较常见,治愈胃贲门癌的唯一方法是手术切除。根据患者具体情况,术后予辅助化疗或放疗。本报道的3例患者均是在因贲门癌行胃次全切或全切除术后送检胃或淋巴结组织中发现存在胃肠道间质瘤,因肿物直径均较小未超过1 cm,术前的消化系钡餐、腹部CT、胃镜等检查中均未发现。根据胃肠道间质瘤术后危险度评价的最新标准^[13],3例术后危险度评价为极低级别,所以针对胃肠道间质瘤在术中行切除后,均未行伊马替尼治疗,术后复查3例患者均无肿瘤复发。

胃肠道间质瘤伴发于上皮性恶性肿瘤通常影像学检查在术前难以发现,可能因为肿瘤体积小、位于消化系壁内、CT和MRI检查常误认为是来源于上皮性恶性肿瘤转移的淋巴结,而大多是在术后病理检查出来的。因此在消化系统肿瘤诊断与治疗过程中应考虑到肿瘤发生的多样性和胃肠道间质的特殊性,应行仔细、全面的检查,病理检查观察因胃癌切除的胃标本时对胃壁进行仔细检查以防漏诊伴随的微小胃肠道间质瘤,反之,在诊断胃肠道间质瘤的时候应怀疑是否合并其他肿瘤的可能。另外,伊马替尼治疗胃肠道间质瘤之后,鉴于受体酪氨酸激酶家族是相当庞大的,任何给定的抑制剂只是作为其中一个受体的拮抗剂,有潜在发生二次肿瘤的可能,因此在使用伊马替尼时应密切监测^[14]。

许多学者对胃肠道间质瘤与其他肿瘤同时发生的现象提出了各种假设,如基因突变、金属硫蛋白的表达、临近组织受同一致癌基因的刺激等^[15,16],但目前暂无数据能支持以上各种假设。Maiorana等^[17]提出多种关于胃同时发生间质瘤与腺癌的假设,考虑或是简单的偶然共存或者是存在某种因果关系,提出了基因突变或者某一种致癌物质能与两种临近组织相互作用,而致使同一器官的不同组织发生肿瘤,而单单巧合不能解释这种现象,尤其在胃癌手术高发区。Andea等^[18]则支持偶然共存这一说法。目前研究认为间质瘤是源于卡哈尔(Cajal)间质细胞,没有证据表明间质瘤与幽门螺杆菌感染、炎症及肠上皮化生有关^[19]。

胃肠道间质瘤与胃贲门腺癌等其他肿瘤同时发生,这种现象是两种或多种病变简单的共存还是存在某种共同致病源或者因果关系目前不太明确。研究这些病例在分子、基因水平上的表达情况或异常,可能会发现其中的病因学,

■创新盘点

胃里同时出现上皮源性肿瘤(贲门癌)和间质源性肿瘤(间质瘤)的报道比较少。

■应用要点

胃肠道间质瘤伴发于上皮性恶性肿瘤通常影像学检查在术前难以发现,可能因为肿瘤体积小、位于消化系壁内、CT和MRI检查常误认为是来源于上皮性恶性肿瘤转移的淋巴结,而大多是在术后病理检查出来的,在实际临床工作中需对病理送检的组织进行细致检查,以免漏诊胃肠道间质瘤。

■同行评价

本文内容详实, 可信. 胃癌合并 GIST 报道较少, 文章对临床工作有指导意义, 学术价值好.

而这有待进一步研究.

3 参考文献

- 1 中国胃肠道间质瘤专家组. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识. 中华病理学杂志 2009; 38: 697-702
- 2 龚勋, 陈宗佑, 项建斌. 胃肠间质瘤诊断与治疗进展. 国际外科学杂志 2008; 35: 177-180
- 3 蔡成机. 胃肠间质瘤的诊治理念. 中国普通外科杂志 2007; 16: 887-889
- 4 陈丽荣. 胃肠道间质瘤特殊类型研究现状. 实用肿瘤杂志 2003; 18: 259-262
- 5 Gonçalves R, Linhares E, Albagli R, Valadão M, Vilhena B, Romano S, Ferreira CG. Occurrence of other tumors in patients with GIST. *Surg Oncol* 2010; 19: e140-e143 [PMID: 20675121 DOI: 10.1016/j.suronc.2010.06.004]
- 6 Bircan S, Candir O, Aydin S, Başpınar S, Bülbül M, Kapucuoglu N, Karahan N, Ciriş M. Synchronous primary adenocarcinoma and gastrointestinal stromal tumor in the stomach: a report of two cases. *Turk J Gastroenterol* 2004; 15: 187-191 [PMID: 15492920]
- 7 Jaworski R, Jastrzebski T, Swierblewski M, Drucis K, Kobierska-Gulida G. Coexistence of hepatocellular carcinoma and gastrointestinal stromal tumor: a case report. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 665-667 [PMID: 16489690]
- 8 Wada Y, Koizumi T, Yokoyama T, Urushihata K, Yamamoto H, Hanaoka M, Kubo K. Synchronous gastrointestinal stromal tumor and primary lung adenocarcinoma. *Intern Med* 2012; 51: 2407-2410 [PMID: 22975558 DOI: 10.2169/internalmedicine.51.7888]
- 9 Reşorlu B, Baltacı S, Reşorlu M, Kankaya D, Savaş B. Coexistence of papillary renal cell carcinoma and gastrointestinal stromal tumor in a case. *Turk J Gastroenterol* 2007; 18: 47-49 [PMID: 17450496]
- 10 Liu YJ, Yang Z, Hao LS, Xia L, Jia QB, Wu XT. Synchronous incidental gastrointestinal stromal and epithelial malignant tumors. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2027-2031 [PMID: 19399938]
- 11 Zhou Y, Wu XD, Shi Q, Jia J. Coexistence of gastrointestinal stromal tumor, esophageal and gastric cardia carcinomas. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2005-2008 [PMID: 23569349]
- 12 Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, Hishima T, Iwasaki Y, Saito K, Hosoya Y, Nakajima T, Funata N. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol* 2006; 37: 1527-1535 [PMID: 16996566 DOI: 10.1016/j.humpath.2006.07.002]
- 13 中国胃肠道间质瘤专家组. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识. 中华病理学杂志 2009; 38: 697-702
- 14 Rygaard K, Nakamura T, Spang-Thomsen M. Expression of the proto-oncogenes c-met and c-kit and their ligands, hepatocyte growth factor/scatter factor and stem cell factor, in SCLC cell lines and xenografts. *Br J Cancer* 1993; 67: 37-46 [PMID: 7678980 DOI: 10.1038/bjc.1993.7]
- 15 Rauf F, Ahmad Z, Muzzafar S, Hussaini AS. Synchronous occurrence of gastrointestinal stromal tumor and gastric adenocarcinoma: a case report. *J Pak Med Assoc* 2006; 56: 184-186 [PMID: 16711342]
- 16 Nemes C, Rogojan L, Surdea-Blaga T, Seicean A, Dumitrascu DL, Ciuce C. Gastrointestinal stromal tumor (GIST) associated with synchronous colon adenocarcinoma - a case report. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 101-103 [PMID: 22457867]
- 17 Maiorana A, Fante R, Maria Cesinaro A, Adriana Fano R. Synchronous occurrence of epithelial and stromal tumors in the stomach: a report of 6 cases. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 682-686 [PMID: 10782147]
- 18 Andea AA, Lucas C, Cheng JD, Adsay NV. Synchronous occurrence of epithelial and stromal tumors in the stomach. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 318-319 [PMID: 11231473]
- 19 Kaffes A, Hughes L, Hollinshead J, Katelaris P. Synchronous primary adenocarcinoma, mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and a stromal tumor in a *Helicobacter pylori*-infected stomach. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 1033-1036 [PMID: 12167128 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2002.02649.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

度必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:

2012年1月





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 11 月 8 日 第 21 卷 第 31 期 (Volume 21 Number 31)



31 / 2013

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 11 月 8 日 第 21 卷 第 31 期 (总第435期)

述 评	3323 肠道感染在肠易激综合征发病机制中的作用 贺星, 崔立红
基础研究	3330 EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌SGC-7901细胞凋亡的增敏作用 毛业波, 刘诗权, 谭林, 周巧, 黄杰安 3338 甘草酸二铵联用红花注射液对大鼠溃疡性结肠炎炎症的影响 原皓, 王鹤鸣, 韩雪 3344 大鼠早期生活应激对成年后功能性慢性内脏痛及下丘脑室旁核内CRH R1表达的影响 赵小平, 喻乐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅
文献综述	3356 <i>nm23</i> 基因及其在食管癌预后监测中的研究进展 侯建章, 冯婧, 侯振江 3363 癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的研究进展 邢军明, 黄志刚 3369 肝损伤修复机制的研究进展 张文娟, 郭昱 3376 纤维化肝脏中肌成纤维细胞的来源 周亚宁, 慕永平, 刘平 3383 不可切除胰腺癌射频消融治疗的进展 陈升阳, 李晓勇
研究快报	3388 纯阳正气胶囊对人胃癌细胞MGC-803增殖和凋亡的影响 吴薇, 吴新荣 3394 干扰素- γ 基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型的建立 陈明发, 夏幼辰, 林永, 孙潺, 杨东亮, 吴珺
临床经验	3400 分泌型卷曲相关蛋白1基因异常甲基化对食管鳞癌的影响 刘畅, 李楠, 陆恒, 吴琳, 袁柏思, 汪芳裕 3405 经上腹正中切口入路治疗食管胃结合部腺癌的临床疗效 朱松明, 陆善伟, 张捷, 龚庆豪 3409 消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血的临床疗效及再出血的因素 阮桂珍, 董正永, 高峰, 阮秀丽 3413 适形放疗和XELOX方案联合治疗胃癌术后腹腔淋巴结转移的临床观察及其机制 李春来, 吴正阳, 杨卫军, 陈果 3418 肝硬化失代偿期患者低钠血症与肝性脑病及肾功能的相关性 蒋汉梅, 王学红, 杨勇, 芦永福 3422 海藻酸钠微球栓塞治疗肝细胞癌术后合并肝脓肿9例 李保国, 王海涛, 张炜浩, 郭志 3429 恶性高位梗阻性黄疸的介入疗效评价及引流方式选择 艾宁, 李智岗, 李顺宗, 杨光, 裴英利, 李博, 殷风华 3435 小肠细菌过度生长与小肠肿瘤的关系及其临床意义 刘扬, 李媛, 张东生, 张爱军, 许琳 3440 差异化分阶段护理管理对SCI患者神经源性肠功能障碍的临床效果 车春, 王慧, 许海霞 3445 中药疏肝健脾止痢方治疗溃疡性结肠炎患者的临床作用 黄英姿, 张丽 3450 中药超声导入对溃疡性结肠炎患者的临床疗效及其细胞因子的影响 杨旭, 王元钊, 叶妮, 王轶, 张苏闽, 方健, 周惠芬 3456 老年肥胖男性直肠癌患者根治手术中直肠韧带处理方式及临床效果 熊忠荣, 李清平, 刘治昆, 蒋亚兰 3460 替加氟或氟尿嘧啶联合奥沙利铂对结直肠癌术后辅助化疗的疗效比较 李永亮, 刑珊珊, 罗以, 袁志军, 朱跃红, 吴尉

病例报告	3464 具有克罗恩病家族史的淋巴瘤患者误诊1例 刘维新, 张绅, 任益
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3337 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3343 《世界华人消化杂志》外文字符标准 3355 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3375 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3387 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3393 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3399 《世界华人消化杂志》参考文献要求 3428 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3439 《世界华人消化杂志》栏目设置 3449 《世界华人消化杂志》正文要求 3455 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 崔立红, 教授, 主任医师, 100048, 北京市, 中国人民解放军海军总医院消化内科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-11-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域领域52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

November 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 31

EDITORIAL	3323 Role of intestinal infection in pathogenesis of irritable bowel syndrome <i>He X, Cui LH</i>
BASIC RESEARCH	3330 EGb761 enhances cisplatin- and etoposide-induced apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells <i>Mao YB, Liu SQ, Tan L, Zhou Q, Huang JA</i> 3338 Therapeutic effects of diammonium glycyrrhizinate combined with safflower solution on ulcerative colitis in rats <i>Yuan H, Wang HM, Han X</i> 3344 Effect of early-life stress on chronic functional visceral pain and CRH R1 expression in the paraventricular nucleus in adult rats <i>Zhao XP, Yu L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM</i>
REVIEW	3356 Relationship between the <i>nm23</i> gene and prognosis of esophageal carcinoma <i>Hou JZ, Feng J, Hou ZJ</i> 3363 Association between CagA/ERK signaling pathway and gastric cancer <i>Xing JM, Huang ZG</i> 3369 Mechanisms of liver repair following injury <i>Zhang WJ, Guo Y</i> 3376 Sources of myofibroblasts in liver fibrosis <i>Zhou YN, Mu YP, Liu P</i> 3383 Radiofrequency ablation for unresectable pancreatic cancer <i>Chen SY, Li XY</i>
RAPID COMMUNICATION	3388 Effect of Chunyangzhengqi capsules on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803 <i>Wu W, Wu XR</i> 3394 An IFN- γ knockout mouse model of HBV persistence <i>Chen MF, Xia YC, Lin Y, Sun C, Yang DL, Wu J</i>
CLINICAL PRACTICE	3400 Clinical significance of secreted frizzled-related protein 1 gene promoter hypermethylation in esophageal squamous cell carcinoma <i>Liu C, Li N, Lu H, Wu L, Yuan BS, Wang FY</i> 3405 Different surgical approaches for adenocarcinoma of the esophagogastric junction <i>Zhu SM, Lu SW, Zhang J, Gong QH</i> 3409 Clinical effect of digestive endoscopy combined with quadruple therapy in treatment of gastric ulcer bleeding <i>Ruan GZ, Dong ZY, Gao F, Ruan XL</i> 3413 Conformal radiation therapy combined with XELOX chemotherapy for management of abdominal lymph node metastasis in patients with gastric cancer after surgery <i>Li CL, Wu ZY, Yang WJ, Chen G</i> 3418 Relationship between hyponatremia and hepatic encephalopathy and renal function in patients with decompensated cirrhosis <i>Jiang HM, Wang XH, Yang Y, Lu YF</i> 3422 Liver abscess after transarterial embolization for hepatocellular carcinoma with kelp micro gelatin: Analysis of 9 patients <i>Li BG, Wang HT, Zhang WH, Guo Z</i> 3429 Efficacy of percutaneous transhepatic biliary drainage in treatment of high malignant biliary obstruction <i>Ai N, Li ZG, Li SZ, Yang G, Chang YL, Li B, Yin FH</i> 3435 Significance of small intestinal bacterial overgrowth in small intestinal tumors <i>Liu Y, Li Y, Zhang DS, Zhang AJ, Xu L</i> 3440 Clinical effect of individualized staged holistic nursing in spinal cord injury patients with neurogenic bowel dysfunction <i>Che C, Wang H, Xu HX</i> 3445 Effects of traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid in treatment of ulcerative colitis <i>Huang YZ, Zhang L</i> 3450 Effect of treatment with Chinese medicine delivered by sonophoresis on serum levels of cytokines in patients with ulcerative colitis <i>Yang X, Wang YZ, Ye N, Wang Y, Zhang SM, Fang J, Zhou HF</i> 3456 Efficacy of paralleled clipping of rectal ligament in resection of rectal cancer in elderly obese male patients <i>Xiong ZR, Li QP, Liu ZK, Jiang YL</i> 3460 Effects of Tegafur or 5-fluorouracil combined with oxaliplatin in adjuvant chemotherapy of colorectal cancer <i>Li YL, Xing SS, Luo Y, Yuan ZJ, Zhu YH, Wu W</i>

CSAE REPORT	3464 Lymphoma misdiagnosed as Crohn's disease in a patient with a family history of Crohn's disease <i>Liu WX, Zhang S, Ren Y</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Li-Hong Cui, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date November 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

肠道感染在肠易激综合征发病机制中的作用

贺星, 崔立红

贺星, 崔立红, 中国人民解放军海军总医院消化内科 北京市 100048

贺星, 在读硕士, 主治医师, 主要从事功能性胃肠病的基础及临床研究。

吴阶平医学基金会临床科研专项基金资助项目, No. 320.675 0.13175

作者贡献分布: 本文综述由贺星完成; 崔立红审校。

通讯作者: 崔立红, 教授, 主任医师, 100048, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院消化内科。

luckycui861@sina.com

电话: 010-66958125

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-08-15

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-11-08

Role of intestinal infection in pathogenesis of irritable bowel syndrome

Xing He, Li-Hong Cui

Xing He, Li-Hong Cui, Department of Gastroenterology, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China

Supported by: the Special Clinical Research Foundation of Wu Jieping Medical Foundation, No. 320.6750.13175

Correspondence to: Li-Hong Cui, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Navy General Hospital of PLA, 6 Fucheng Road, Haidiang District, Beijing 100048, China. luckycui861@sina.com

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-08-15

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-11-08

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional digestive disorder characterized by abdominal pain/discomfort and changes in bowel habit (diarrhea and/or constipation). Its etiology and pathogenesis are still not completely clear. In recent years, the relationship between intestinal infection and IBS has attracted increasing attention, since intestinal infection may play a role in the pathogenesis of IBS. This article will review the role of intestinal infection in the pathogenesis of IBS.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Post-infectious irritable bowel syndrome; Pathogenesis; Intestinal infection; Gut barrier; Bacterial overgrowth; Brain-gut axis

He X, Cui LH. Role of intestinal infection in pathogenesis of irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3323-3329 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3323.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3323>

摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种功能性胃肠病, 主要症状为腹痛或腹部不适以及排便习惯改变(腹泻和/或便秘), 尚无明确病因及发病机制。近年来, 人们对肠道感染与IBS的关系的研究越来越多, 肠道感染在IBS发病中的作用越来越得到人们的重视。本文主要就肠道感染参与IBS发病的可能机制予以综述。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠易激综合征; 感染后肠易激综合征; 发病机制; 肠道感染; 肠黏膜屏障; 小肠细菌过度生长; 脑-肠轴

核心提示: 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种功能性胃肠病, 目前尚无明确病因及发病机制。近年来, 肠道感染在IBS发病中的作用越来越得到人们的重视。肠道感染可能通过破坏肠道黏膜屏障、改变脑-肠轴、导致小肠细菌过度生长来导致肠易激综合征的发生。

贺星, 崔立红. 肠道感染在肠易激综合征发病机制中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(31): 3323-3329 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3323.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3323>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种功能性胃肠病, 主要症状为腹痛或腹部不适以及排便习惯改变(腹泻和/或便秘), 并且没有可解释这些症状的生化指标及形态结构异常。近年来发病率呈逐年上升趋势, 且患者多以年轻人和中年人为主。由于该病患病率高、病程长、易反复、治疗困难、严重影响生活质量而

■背景资料

肠道感染与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)密切相关。大量报道指出肠道感染会导致IBS的发生。虽其确切机制尚未研究清楚, 但是一系列假说已经被提出, 本文对可能的致病机制的最新研究进行阐述。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

■ 研发前沿

IBS被认为是一种肠道功能性疾病,但其发生发展过程中是否伴有器质性的改变成为目前研究的热点,而肠道感染与IBS的关系的研究提示IBS可能伴有某些器质性改变。IBS患者肠道到底有无器质性改变成为亟待研究的问题。

引起人们的广泛重视。在西方国家人群发病率约为15%-20%,我国约为5%-10%^[1]。美国每年因为IBS大约消耗医疗费用80亿美元^[2]。尽管现在研究对IBS的认识不断深入和发展,目前尚无一种病因和发病机制可以完全阐明IBS。有研究报道,IBS与饮食、精神、肠敏感性增强、胃肠动力障碍及肠道菌群失调等诸多因素有关^[3-5]。IBS患者中的一部分人群以往无肠道异常,在经历一段时期的肠道感染(并至少有呕吐、腹泻、发热及肠道细菌培养阳性4种症状中的2项)后出现IBS症状。这类人群所患的IBS被称为感染后肠易激综合征(post-infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS),即经过一段时间的急性胃肠道感染后,开始出现腹部不适、腹胀、腹泻等IBS症状的胃肠道紊乱性疾病^[6]。目前该概念已经得到学术界普遍认同。随着PI-IBS概念的提出,人们对肠道感染与IBS的关系的研究越来越多,肠道感染在IBS发病中的作用越来越得到人们的重视。

1 PI-IBS的流行病学调查

Stewart^[7]于1950年首次注意到IBS和肠道感染之间的联系,他描述了英国士兵在二次世界大战中急性肠道感染后出现的原因不明的腹痛、腹泻或腹部不适。20世纪60年代,Chaudhary和Truelove^[8]首次提出了PI-IBS的概念,他们通过一系列回顾性研究,发现有相当比例的IBS患者在症状出现前曾有过急性肠道感染的经历。之后有研究表明,细菌性胃肠道感染的患者,6 mo后出现肠功能紊乱的约占25%^[9]。另外,有研究报道部分患者在急性肠炎发生之后的几个月,可以出现持续低水平的直肠炎症,并伴有持续的IBS症状^[10]。之后在英国、北美、西班牙、韩国、以色列和新西兰等地陆续有各种IBS前瞻及回顾性研究。目前已发表的研究报告PI-IBS的发病率为4%-32%,平均为10%^[11]。

2 PI-IBS的相关证据

McKendrick等^[12]研究急性沙门菌感染的胃肠炎患者,发现虽然细菌已经清除,但仍然有部分患者伴有肠道感染表现,并于3 mo后出现IBS样胃肠道症状。国内流行病学调查显示,痢疾感染是IBS的危险因素之一^[13]。Schwille-Kiuntke等^[14]对空肠弯曲菌或沙门氏菌感染者进行的调查显示,在189例回访者中,有56例报道有持续性症状。Thabane等^[15](2000年)对加拿大305例感染大肠

杆菌或空肠弯曲杆菌感染的急性胃肠炎儿童及162例未感染儿童进行了8年的随访,发现暴露组IBS的累积发病率明显高于对照组(10.5% vs 2.5%),提供了儿童感染后IBS的证据。

除了细菌可引起肠易激综合征,Zanini等^[16]随访了348例由诺瓦克病毒引起的急性胃肠炎患者。在问卷调查中,6 mo时186例随访者在腹痛、腹泻、便秘等症状的表现上显著高于对照组,12 mo时,有40例随访者存在符合罗马III标准的IBS症状。

另外,对寄生虫感染引起的感染后IBS的研究较多,主要有旋毛虫、巴西钩虫和小隐孢子虫。Soyturk等^[17]首次报道了旋毛虫感染后肠易激综合征。72例既往无IBS症状的旋毛虫感染者和27例未感染者入组。问卷调查在面面对面的访谈后第2、4及6月进行,72例中有10例(13.9%)发展为IBS(罗马II标准),第4、6月的发生率均为13.9%,而对照组无一例发展为IBS。

3 肠道感染对IBS的致病作用

肠道感染对IBS的潜在作用机制尚不甚明确,但是一系列假说已经被提出。通过大量的流行病学调查、临床试验、动物模型、分子生物学及组织病理学研究,发现感染可能通过肥大细胞、细胞因子等对肠黏膜屏障的破坏作用,小肠细菌过度生长及脑-肠轴等途径导致肠道黏膜上皮通透性改变、肠道菌群异位及持续低度炎症,从而产生腹痛、腹泻、便秘等肠易激综合征症状。

3.1 肠道感染对肠黏膜屏障的破坏作用 完整的肠黏膜屏障在防御胃肠道内病原体微生物、毒素和抗原侵袭方面起到重要作用。肠道感染可以使肠黏膜屏障受到破坏,增高肠黏膜上皮通透性,并使肥大细胞数量及细胞因子表达增高,继而影响内脏感觉、胃肠动力和分泌功能。Hebden等^[18]对有肠道感染史的17例IBS患者的小肠及大肠通透性进行检测,结果显示有肠道感染史的IBS患者小肠通透性显著增高,从而使水及钠盐吸收减少而产生腹泻症状。左戎等^[19]利用结肠镜活检IBS患者乙状结肠黏膜,并通过电镜观察微观结构的方法,证明PI-IBS肠道黏膜超微结构发生改变,对肠黏膜屏障功能产生重大影响。

3.1.1 病原体的侵袭:健康人的肠道定植大量的专性厌氧菌,他们与其他细菌相互作用、相互依赖,保持平衡。同时可与肠上皮紧密结合,共同构成肠道的生物屏障^[20]。当肠道感染时,致病

菌可与肠道常驻菌群竞争性的结合肠上皮, 从而破坏肠道的微生物屏障, 影响肠道黏膜屏障的完整性; 致病菌死后可以产生以脂多糖为主的内毒素, 可以破坏肠道黏膜的机械屏障, 导致黏膜下充血水肿, 肠绒毛顶端细胞坏死, 绒毛融合、脱落、缺损, 细胞间紧密连接破坏, 导致肠道通透性增加. 内毒素不仅可以破坏肠黏膜完整性, 还可以通过物质代谢影响肠道黏膜修复^[21]; 肠道感染还可以使肠道动力改变^[22], 影响胃酸、溶菌酶及肠道粘液中补体的杀菌作用, 从而破坏肠道的化学屏障; 另外肠道病原体(包括细菌、寄生虫、病毒等)还可以引起肠黏膜炎症反应, 破坏肠道免疫屏障.

3.1.2 肠道感染与肥大细胞(mast cell, MC): 嗜碱性细胞在结缔组织和黏膜上皮内时, 称MC. MC具有脱颗粒作用, 细胞崩解时可产生免疫活性物质及神经递质如五羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、组胺、血小板活化因子、前列腺素、白三烯、细胞因子等. 细菌、寄生虫或食物抗原等可诱导人胃肠黏膜的MC分泌上述物质. 动物实验^[23]证实大鼠在感染旋毛虫后(动物内脏高敏感模型), 肠黏膜MC增生. Pokkunuri等^[24]通过构建细胞致死肿胀毒素(CDT)模型发现直肠MC数目较正常对照组明显增多, 5-HT阳性迷走神经纤维密度亦明显增加, 且环绕于MC周围. 有研究报道^[25], PI-IBS患者回肠末端固有膜内MC的数目增多(PI-IBS: 85% vs non-IBS: 15%). 感染后IBS患者的MC活化增加, 通过组胺、5-HT等物质影响肠道收缩、增加肠道通透性及提高肠道敏感性产生IBS症状. 胃肠黏膜内MC可通过5-HT等物质作用于迷走传入神经通路从而产生内脏高敏感性^[26], 也可通过组胺、5-HT等作用于胃肠道平滑肌的相应受体, 影响胃肠道平滑肌细胞的离子转运和平滑肌运动^[27]. MC还可以通过脱颗粒作用影响肠道肌肉收缩及神经的易感性, 改变肠道的生理^[28]. Lee等^[29]发现肠道黏膜MC的数量与肠道通透性存在正相关, 提示MC在腹泻型肠易激综合症患者的肠道通透性增加方面发挥了重要作用. Park等^[30]报道, IBS组中直肠及盲肠中MC总数及活化程度显著高于对照组, 提示MC在肠道感觉过敏机制中发挥重要作用.

3.1.3 肠道感染与细胞因子(cytokines): 细胞因子是免疫原、丝裂原或其他刺激剂诱导多种细胞产生的低分子量可溶性蛋白质, 在细胞免疫及炎症反应中起到重要功能. 根据其在感染和炎

症反应中作用的不同分为促炎因子, 如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-8、IL-12、IL-18等, 抗炎因子, 如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-4、IL-10等和调节性细胞因子(IL-2等). 肠道感染可导致IBS患者肠道黏膜促炎因子和抑炎因子表达失衡. 梁海清等^[31]发现感染后IBS患者IL-6、IL-18的黏膜表达阳性率高于对照组及非感染后IBS组; 非感染后IBS患者IL-6、IL-18的黏膜表达阳性率与对照组比较无显著差异. Chen等^[32]研究发现PI-IBS组黏膜表达的IFN- γ 显著高于非感染后IBS组和对照组, 而IL-10在PI-IBS组明显显著低于非感染后IBS组和对照组. 肠道感染同时可导致IBS患者外周血促炎因子和抑炎因子表达失衡. 有研究显示, PI-IBS患者肠道局部和外周血IL-6、IL-8等明显增加, 而抑炎因子如IL-10无明显改变^[33]. 此外, Schmulson等^[34]在研究墨西哥人群时发现, IBS组的血清IL-10显著低于对照组, 而TNF- α 水平要高于对照组. 细胞因子可以通过补体系统的细胞毒性、其他炎性细胞释放致损物质及与其他炎性介质形成连锁反应等途径^[35]作用于肠道黏膜, 使肠道黏膜充血水肿, 从而破坏肠道黏膜屏障, 导致肠道通透性增加. 另外, 部分细胞因子如IL-1 β 、TNF- α 、TNF- β 还可以通过上述途径影响胃肠道的运动及分泌, 抑制水、钠的重吸收而产生腹泻症状. Long等^[36]在研究感染后肠易激综合征小鼠模型中发现, IL-12可能与内脏高敏感的持续存留相关. 以上研究均提示炎症机制参与肠道感染后IBS的发病.

3.2 肠道感染与脑-肠轴(brain-gut axis) 胃肠道主要受中枢神经系统(CNS)、交感神经、副交感神经、脊髓神经及肠神经系统(ENS)控制. 因其功能独立于CNS, ENS又被称为“肠小脑”^[37,38]. ENS包括控制肠道运动的肠道肌间神经丛和调节肠道分泌和局部血流的黏膜下神经丛^[39], 其中的大量神经元通过突触连接形成整合的微环路. 肠道神经元含有多种神经递质如(乙酰胆碱、血管活性肠肽、脑啡肽、生长抑素等), 这些递质相互协同、相互拮抗, 共同调节肠道的水、钠分泌和吸收, 使肠道的水、电解质吸收代谢处于相对平衡状态^[40]. 肠道感染后, 肠道免疫或炎症细胞以旁分泌的方式作用ENS的神经元, 使神经元发放冲动频率增加, 同时可以抑制神经元

■ 相关报道

目前的相关报道中, 关于免疫-神经-内分泌网络系统在感染后IBS中的作用研究较多, 感染是单独参与发病机制还是须与其他因素如免疫、神经调节异常共同作用是目前研究的热点.

■创新盘点

本文较为全面的总结了肠道感染在IBS发病机制中的影响,在以往文章中对小肠细菌过度生长在IBS发病中的作用关注较少,但本文做了较为详尽的阐述,是本文较为新颖的地方。

释放神经递质;炎性介质(如TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、5-HT等)可以直接作用于神经元相应受体,提高神经元的兴奋性;同时上述炎性介质可以通过突触前抑制影响神经元的传导。故肠道感染可以通过上述途径影响肠道的水、电解质平衡。同时肠道感染可以通过重塑肠道神经元,即改变肠神经元、相关神经递质形态、数量及相关基因表达而影响肠道动力^[41]。另外,研究还发现肠道感染还可以通过多种生物活性物质作用于ENS导致IBS内脏敏感性异常^[42,43]。ENS除了能够单独的调节胃肠道的运动和感觉,还可以和CNS相互作用,即IBS患者对外周刺激表现出中枢的高反应性(脑),同时对中枢的应激事件也表现出内脏的高敏感性(肠),称为IBS患者脑-肠轴的改变^[44]。促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin releasing factor, CRF)是一种41个氨基酸的肽,产生在中央中枢神经系统和外周组织,在脑-肠轴相互作用中起到重要作用。感染通过应激刺激体内产生的细胞因子(如IL-1^[45]),以及细菌死后崩解的内毒素均能够影响下丘脑CRF神经元,活化下丘脑-垂体-肾上腺轴,通过儿茶酚胺激素影响胃肠道的运动和分泌。而且部分患者在肠道感染后,其中枢CRF神经元功能可能持续存在异常^[46]。Overman等^[47]发现CRF通过促进MC释放的TNF- α 和蛋白酶导致肠细胞间通透性增加,而且CRF-MC通路及肠道通透性的增加需要ENS信号的关键输出。除了CRF, 5-HT既是ENS中重要的神经递质,也是CNS中重要的信号分子。5-HT可以通过ENS单独完成反射,影响肠道的运动及分泌。同时肠道内长期的低度的炎症状态可以通过5-HT等疼痛递质致敏传入神经末梢,放大疼痛效应^[48]。另外5-HT作为CNS中重要的信号分子,在控制情绪方面起到重要的作用^[49],被认为与焦虑、抑郁等精神疾病相关。而许多研究报道,IBS患者的焦虑、抑郁指数明显高于正常人群。Park等^[50]通过构建抑郁大鼠模型发现抑郁情绪可以改变肠道动力、肠道菌群及5-HT水平,这很好的证明了5-HT通过CNS途径影响患者精神心理状态从而产生IBS。故肠道感染可通过CRF及5-HT等物质使ENS及CNS相互作用,影响肠道的运动、分泌及敏感性。感染导致的肠道神经系统与中枢神经系统的相互作用在IBS症状持续中起重要作用。这可能是PI-IBS的发病机制之一。

3.3 小肠细菌过度生长(enteric bacterial overgrowth syndrome, SIBO)与IBS SIBO是指上消

化道内菌群数量增加和/或种类发生变化,表现为腹胀、腹泻、营养吸收不良、体质量减轻及营养不良等症状的综合征^[51]。许多研究报道,小肠细菌过度生长与肠易激综合征的发病密切相关。随机双盲对照试验^[52]显示,使用抗生素成功治疗SIBO后,75%的IBS患者肠道症状缓解,在治疗后10 wk仍维持缓解状态。也有研究^[53]提示肠道菌群失调可使IBS患者肠道存在低度炎症,导致IBS患者内脏高敏。Pimentel等^[54]发现111例乳糖氢呼吸试验异常的患者中,有93例伴有IBS,在使用抗生素成功治疗SIBO后,35%的患者主观不适症状减轻。SIBO引起IBS的可能机制为:(1)SIBO影响小肠动力。两餐之间的间期,上消化道存在特征性的周期性蠕动波,称为主要移行性复合波,其中主要移行性复合波III相(MMC III)是从胃或十二指肠移行到远端回肠的功能强大的收缩波,被认为在IBS患者产生腹痛、腹胀等症状中起到重要作用^[55]。MMCIII与IBS之间重要的联系最早由Vantrappen等^[56]描述。Pimentel等^[57]发现与对照组相比,IBS组的MMCIII相的频率明显减少,这很好地解释了IBS患者的腹胀症状。Lesniewska等^[58]通过建立小肠细菌过度生长的大鼠模型,增加了小肠消化间期MMC的收缩频率和传播速度,提示小肠转运时间加快,这可能解释了IBS患者腹痛及腹泻的症状。动物实验^[59]发现乳酸杆菌、梭状芽孢杆菌和双歧杆菌感染后的SD无菌大鼠MMCIII相周期显著缩短,而大肠杆菌和微球菌感染后则延长MMCIII相周期,证明不同肠道菌可通过对肠道动力作用的不同产生不同的症状;(2)产生过量气体导致腹胀、便秘症状。腹胀、便秘是多数IBS患者的主要症状。Koide等^[60]通过腹部平片检查得出腹胀症状与肠道气体增加之间的客观证据。目前,用于诊断SIBO的乳糖或葡萄糖氢呼吸实验可以很好地证明SIBO患者的氢气总排出量显著高于正常人群。除了产生氢气,过度生长的肠道细菌还可以发酵底物产生甲烷及二氧化碳等气体。在Pimentel的两个实验中发现,只产生甲烷的患者全部是便秘型肠易激综合征者, Ghoshal等^[61]通过减少患者肠道甲烷量而成功的使一例便秘患者症状缓解。说明肠道产生的过量甲烷气体可能是导致IBS患者便秘的原因;(3)SIBO激活肠道黏膜免疫反应。正常肠道定植着大量细菌,这些菌群与机体相互作用,维持正常的新陈代谢及机体的各项功能,同时刺激机体产生完备的免疫功能。过度生长的细菌会产生各种

有毒物质, 包括(氨、D-乳酸、内源性细菌肽聚糖等), 这些物质包括细菌本身可以刺激肠道免疫细胞产生细胞因子^[62,63], 从而导致肠道黏膜敏感性增高, 使肠道处于易激状态. 研究^[64]发现, 77例IBS患者中90%存在上皮内淋巴细胞激活. 因此, SIBO可通过免疫反应产生IBS的相关症状; (4)SIBO使黏膜屏障受损. SIBO的负面影响不仅表现在功能上, 对于肠道黏膜形态上也存在影响. 微观结构的变化(特别是在固有层)以及黏膜腺体的萎缩比较常见. Hoog等^[65]通过胶囊内镜发现18例慢性肌性或神经运动性疾病中, 16例出现黏膜破损(溃疡或糜烂). 肠黏膜受损导致肠道通透性增加, 从而使IBS患者产生腹泻症状.

4 结论

部分患者在急性肠道感染痊愈后出现IBS症状的证据已比较充分, 感染在IBS发病中起到的作用已经得到学术界的普遍认可. 目前研究发现, 肠道感染可通过破坏肠黏膜屏障、脑-肠轴及小肠细菌过度生长等途径导致IBS. 因此, 控制肠道感染可能是有效治疗IBS的方法之一. 同时加强饮食卫生, 避免肠道感染, 可能在预防IBS的发生中起到一定作用. 相信通过对IBS的发病机制不断深入的认识, 最终可以达到预防、治愈IBS的目的.

5 参考文献

- 1 Chang FY, Lu CL. Irritable bowel syndrome in the 21st century: perspectives from Asia or South-east Asia. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 4-12 [PMID: 17201873]
- 2 Talley NJ, Gabriel SE, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Evans RW. Medical costs in community subjects with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1995; 109: 1736-1741 [PMID: 7498636 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90738-6]
- 3 Ammoury RF, Pfefferkorn Mdel R, Croffie JM. Functional gastrointestinal disorders: past and present. *World J Pediatr* 2009; 5: 103-112 [PMID: 19718531 DOI: 10.1007/s12519-009-0021-6]
- 4 蒋梦真. 肠易激综合征发病机理的研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 1042-1048
- 5 李尚勤, 孟丽秋. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的相关性研究. 医学综述 2005; 11: 952-953
- 6 Thabane M, Marshall JK. Post-infectious irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3591-3596 [PMID: 19653335 DOI: 10.3748/wjg.15.3591]
- 7 STEWART GT. Post-dysenteric colitis. *Br Med J* 1950; 1: 405-409 [PMID: 15410136 DOI: 10.1136/bmj.1.4650.405]
- 8 Chaudhary NA, Truelove SC. The irritable colon syndrome. A study of the clinical features, predisposing causes, and prognosis in 130 cases. *Q J Med* 1962; 31: 307-322 [PMID: 13878459]
- 9 Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997; 314: 779-782 [PMID: 9080994 DOI: 10.1136/bmj.314.7083.779]
- 10 Park H. [The pathophysiology of irritable bowel syndrome: inflammation and motor disorder]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 101-110 [PMID: 16498275]
- 11 Serghini M, Karoui S, Boubaker J, Filali A. [Post-infectious irritable bowel syndrome]. *Tunis Med* 2012; 90: 205-213 [PMID: 22481191]
- 12 McKendrick MW, Read NW. Irritable bowel syndrome--post salmonella infection. *J Infect* 1994; 29: 1-3 [PMID: 7963621 DOI: 10.1016/S0163-4453(94)94871-2]
- 13 潘国宗, 鲁素彩, 柯美云, 韩少梅, 郭慧平, 方秀才. 北京地区肠易激综合征的流行病学研究: 一个整群、分层、随机的调查. 中华流行病学杂志 2000; 21: 26-29
- 14 Schwille-Kiuntke J, Enck P, Zendler C, Krieg M, Polster AV, Klosterhalfen S, Autenrieth IB, Zipfel S, Frick JS. Postinfectious irritable bowel syndrome: follow-up of a patient cohort of confirmed cases of bacterial infection with *Salmonella* or *Campylobacter*. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: e479-e488 [PMID: 21883703 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01779.x]
- 15 Thabane M, Simunovic M, Akhtar-Danesh N, Garg AX, Clark WF, Collins SM, Salvadori M, Marshall JK. An outbreak of acute bacterial gastroenteritis is associated with an increased incidence of irritable bowel syndrome in children. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 933-939 [PMID: 20179687 DOI: 10.1038/ajg.2010.74]
- 16 Zanini B, Ricci C, Bandera F, Caselani F, Magni A, Laronga AM, Lanzini A. Incidence of post-infectious irritable bowel syndrome and functional intestinal disorders following a water-borne viral gastroenteritis outbreak. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 891-899 [PMID: 22525306 DOI: 10.1038/ajg.2012.102]
- 17 Soyuturk M, Akpınar H, Gurler O, Pozio E, Sari I, Akar S, Akarsu M, Birlik M, Onen F, Akkoc N. Irritable bowel syndrome in persons who acquired trichinellosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1064-1069 [PMID: 17313500 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01084.x]
- 18 Hebden JM, Erah PO, Blackshaw PE, et al. Increased small bowel but not colonic permeability in post-infectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1998; 114 (suppl): A429 [DOI: 10.1016/S0016-5085(98)83122-3]
- 19 左戎, 王巧民, 张旭, 胡闻, 杨清峰. 感染后肠易激综合征肠道黏膜超微结构的变化与肠道黏膜屏障障碍的关系. 蚌埠医学院院报 2012; 37: 172-175
- 20 尉秀清, 姚集鲁, 文卓夫. 肠道黏膜屏障功能及其临床检测. 国外医学内科学分册 2004; 10: 415-418
- 21 Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg* 2003; 186: 301-305 [PMID: 12946837 DOI: 10.1016/S0002-9610(03)00220-4]
- 22 周政, 王巧民. 感染后肠功能紊乱和树突状细胞的关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 968-970
- 23 Serna H, Porras M, Vergara P. Mast cell stabilizer ketotifen [4-(1-methyl-4-piperidylidene)-4h-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]thiophen-10(9H)-one fumarate] prevents mucosal mast cell hyperplasia and intestinal dysmotility in experimental Trichi-

■应用要点

本文全面系统阐述了肠道感染对IBS发病机制的影响, 提供了大量有价值的信息, 对进一步研究IBS发病机制有较好的指导意义.

■同行评价

本文逻辑性较强,从多个侧面来阐述IBS与肠道感染的关系,旨在探求IBS的发病机制,对基础和临床工作有一定的指导意义。

- nella spiralis inflammation in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 1104-1111 [PMID: 16988056 DOI: 10.1124/jpet.106.104620]
- 24 Pokkunuri V, Pimentel M, Morales W, Jee SR, Alpern J, Weitsman S, Marsh Z, Low K, Hwang L, Khoshini R, Barlow GM, Wang H, Chang C. Role of cytolethal distending toxin in altered stool form and bowel phenotypes in a rat model of post-infectious irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil* 2012; 18: 434-442 [PMID: 23106005 DOI: 10.5056/jnm.2012.18.4.434]
 - 25 Verdú EF, Bercik P, Verma-Gandhu M, Huang XX, Blennerhassett P, Jackson W, Mao Y, Wang L, Rochat F, Collins SM. Specific probiotic therapy attenuates antibiotic induced visceral hypersensitivity in mice. *Gut* 2006; 55: 182-190 [PMID: 16105890]
 - 26 颜秀娟, 陈胜良. 肠黏膜肥大细胞参与感染后肠易激综合征内脏高敏感机制的研究进展. *胃肠病学* 2011; 16: 435-437
 - 27 刘新光. 肠易激综合征与肠道感染. *胃肠病学* 2003; 8: 8-9
 - 28 Traub RJ, Tang B, Ji Y, Pandya S, Yfantis H, Sun Y. A rat model of chronic postinflammatory visceral pain induced by deoxycholic acid. *Gastroenterology* 2008; 135: 2075-2083 [PMID: 19000677 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.08.051]
 - 29 Lee H, Park JH, Park DI, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Chae SW. Mucosal mast cell count is associated with intestinal permeability in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 244-250 [PMID: 23667756]
 - 30 Park CH, Joo YE, Choi SK, Rew JS, Kim SJ, Lee MC. Activated mast cells infiltrate in close proximity to enteric nerves in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *J Korean Med Sci* 2003; 18: 204-210 [PMID: 12692417]
 - 31 梁海清, 王世和, 祝莹, 王福胜. 感染后肠易激综合征患者肠黏膜炎性细胞因子的失衡. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 1032-1035
 - 32 Chen J, Zhang Y, Deng Z. Imbalanced shift of cytokine expression between T helper 1 and T helper 2 (Th1/Th2) in intestinal mucosa of patients with post-infectious irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 91 [PMID: 22816602 DOI: 10.1186/1471-230X-12-91]
 - 33 Sung IK. [Hypothalamic-pituitary-gut axis dysregulation in irritable bowel syndrome: plasma cytokines as a potential biomarker?]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 48: 140-142 [PMID: 16929161 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.033]
 - 34 Schmulson M, Pulido-London D, Rodriguez O, Morales-Rochlin N, Martinez-García R, Gutierrez-Ruiz MC, López-Alvarenga JC, Robles-Díaz G, Gutiérrez-Reyes G. Lower serum IL-10 is an independent predictor of IBS among volunteers in Mexico. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 747-753 [PMID: 22270083 DOI: 10.1038/ajg.2011.484]
 - 35 张喜平, 陈汉卿. 急性胰腺炎并发肠黏膜屏障损害机制与作用. *医学研究杂志* 2006; 35: 78-80
 - 36 Long YQ, Tong JJ, Qian W, Hou XH. [Altered expression of intestinal cytokines in development of postinfectious irritable bowel syndrome mouse model]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2010; 90: 2415-2419 [PMID: 21092513]
 - 37 Holzer P, Schicho R, Holzer-Petsche U, Lippe IT. The gut as a neurological organ. *Wien Klin Wochenschr* 2001; 113: 647-660 [PMID: 11603099]
 - 38 Boeckxstaens GE. Understanding and controlling the enteric nervous system. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 1013-1023 [PMID: 12473304 DOI: 10.1053/bega.2002.0336]
 - 39 陈鹏, 胡立华, 张艳杰, 常英娟, 张鉴颖. 肠易激综合征大鼠肠神经系统内 γ -氨基丁酸及其受体的表达. *中国现代医生* 2012; 50: 15-17
 - 40 黄祖雄, 叶礼燕. 感染性腹泻与肠道神经系统. *国外医学儿科学分册* 2004; 31: 4-6
 - 41 李小玲, 林中, 袁园, 郑清华, 程晓雯. 胃肠动力的神经调节. *神经解剖学杂志* 2012; 28: 213-216
 - 42 王巍峰, 杨云生, 孙刚, 彭丽华. 肠易激综合征大鼠模型脊髓后角神经递质表达的改变. *胃肠病学和肝病学杂志* 2006; 15: 405-408
 - 43 Ragnarsson G, Hallböök O, Bodemar G. Abdominal symptoms and anorectal function in health and irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 833-842 [PMID: 11495079 DOI: 10.1080/003655201750313360]
 - 44 Fukudo S, Nomura T, Muranaka M, Taguchi F. Brain-gut response to stress and cholinergic stimulation in irritable bowel syndrome. A preliminary study. *J Clin Gastroenterol* 1993; 17: 133-141 [PMID: 8031340 DOI: 10.1097/00004836-199309000-00009]
 - 45 Kraneveld AD, Rijnierse A, Nijkamp FP, Garssen J. Neuro-immune interactions in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: future therapeutic targets. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 361-374 [PMID: 18417115]
 - 46 Fichna J, Storr MA. Brain-Gut Interactions in IBS. *Front Pharmacol* 2012; 3: 127 [PMID: 22783191 DOI: 10.3389/fphar.2012.00127]
 - 47 Overman EL, Rivier JE, Moeser AJ. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF- α . *PLoS One* 2012; 7: e39935 [PMID: 22768175 DOI: 10.1371/journal.pone.0039935]
 - 48 林艺娟, 王承党. 沿脑-肠轴探讨肠易激综合征的可能机制. *医学综述* 2008; 14: 3138-3141
 - 49 Colucci R, Gambaccini D, Ghisu N, Rossi G, Costa F, Tuccori M, De Bortoli N, Fornai M, Antonioli L, Ricchiuti A, Mumolo MG, Marchi S, Blandizzi C, Bellini M. Influence of the serotonin transporter 5HTTLPR polymorphism on symptom severity in irritable bowel syndrome. *PLoS One* 2013; 8: e54831 [PMID: 23393559 DOI: 10.1371/journal.pone.0054831]
 - 50 Park AJ, Collins J, Blennerhassett PA, Ghia JE, Verdú EF, Bercik P, Collins SM. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 733-e575 [PMID: 23773726]
 - 51 Bures J, Cyraný J, Kohoutová D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, Vorisek V, Kopacova M. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2978-2990 [PMID: 20572300]
 - 52 Nouredin M, Lin HC. Role of gut bacteria in patients with irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41 Suppl 1: S33-S36 [DOI: 10.1097/MCG.0b013e3180517039]
 - 53 Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3503-3506 [PMID: 11151884 DOI: 10.1016/S0002-9270(00)02161-4]
 - 54 Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Normalization of lactulose breath testing correlates with symp-

- tom improvement in irritable bowel syndrome. a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 412-419 [PMID: 12591062 DOI: 10.1016/S0002-9270(02)05902-6]
- 55 Larsson MH, Simrén M, Thomas EA, Bornstein JC, Lindström E, Sjövall H. Elevated motility-related transmucosal potential difference in the upper small intestine in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 812-820 [PMID: 17883433]
- 56 Vantrappen G, Janssens J, Hellemans J, Ghooys Y. The interdigestive motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine. *J Clin Invest* 1977; 59: 1158-1166 [PMID: 864008 DOI: 10.1172/JCI108740]
- 57 Pimentel M, Soffer EE, Chow EJ, Kong Y, Lin HC. Lower frequency of MMC is found in IBS subjects with abnormal lactulose breath test, suggesting bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2639-2643 [PMID: 12498278]
- 58 Lesniewska V, Rowland I, Laerke HN, Grant G, Naughton PJ. Relationship between dietary-induced changes in intestinal commensal microflora and duodenojejunal myoelectric activity monitored by radiotelemetry in the rat in vivo. *Exp Physiol* 2006; 91: 229-237 [PMID: 16263800 DOI: 10.1113/expphysiol.2005.031708]
- 59 沈峰, 陈光榆, 李定国. 肠易激综合征与肠道细菌关系的研究进展. *上海交通大学学报* 2010; 30: 852-855
- 60 Koide A, Yamaguchi T, Odaka T, Koyama H, Tsuyuguchi T, Kitahara H, Ohto M, Saisho H. Quantitative analysis of bowel gas using plain abdominal radiograph in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1735-1741 [PMID: 10925977 DOI: 10.1016/S0002-9270(00)00981-3]
- 61 Ghoshal UC, Srivastava D, Verma A, Misra A. Slow transit constipation associated with excess methane production and its improvement following rifaximin therapy: a case report. *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 185-188 [PMID: 21602997 DOI: 10.5056/jnm.2011.17.2.185]
- 62 Vanderhoof JA, Young RJ. Etiology and pathogenesis of bacterial overgrowth. Clinical manifestations and diagnosis of bacterial overgrowth. Treatment of bacterial overgrowth. UpToDate online, vol 18.1; Wellesley 2010. Available from: URL: <http://www.uptodate.com>
- 63 Dibaise JK, Young RJ, Vanderhoof JA. Enteric microbial flora, bacterial overgrowth, and short-bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 11-20 [PMID: 16431299 DOI: 10.1016/j.cgh.2005.10.020]
- 64 Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-1783 [PMID: 12055584]
- 65 Hoog CM, Lindberg G, Sjöqvist U. Findings in patients with chronic intestinal dysmotility investigated by capsule endoscopy. *BMC Gastroenterol* 2007; 7: 29 [PMID: 17640373 DOI: 10.1186/1471-230X-7-29]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌SGC-7901细胞凋亡的增敏作用

毛业波, 刘诗权, 谭林, 周巧, 黄杰安

■背景资料

我国是胃癌高发区, 早期胃癌诊断困难, 大部分患者就诊时已是晚期, 需采取化疗为主的综合治疗, 然而胃癌细胞易对化疗药产生耐药性, 严重制约了化疗药物的应用。因此, 寻找一种高效低毒的化疗方案是目前研究焦点。

毛业波, 刘诗权, 谭林, 周巧, 黄杰安, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

毛业波, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的发病机制和防治的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018182

广西卫生厅基金资助项目, No. GZKZ10-107

广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. YCSZ2012034

作者贡献分布: 此课题由刘诗权与黄杰安设计; 研究过程由毛业波、谭林及周巧操作完成; 研究所用试剂和分析工具由刘诗权提供; 数据分析由毛业波完成; 本论文由毛业波与刘诗权完成。

通讯作者: 刘诗权, 副教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化科。

poempower@163.com

电话: 0771-5356501

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-09-18

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

EGb761 enhances cisplatin- and etoposide-induced apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells

Ye-Bo Mao, Shi-Quan Liu, Lin Tan, Qiao Zhou, Jie-An Huang

Ye-Bo Mao, Shi-Quan Liu, Lin Tan, Qiao Zhou, Jie-An Huang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2011GXNSFA018182; and the Foundation of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. GZKZ10-107; the Graduate Education Innovation Program of Guangxi, No. YCSZ2012034

Correspondence to: Shi-Quan Liu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. poempower@163.com

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-09-18

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To assess the effect of Ginkgo biloba extract (EGb761) combined with cisplatin or etoposide on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line SGC-7901 and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: SGC-7901 cells were treated with

EGb761, cisplatin, etoposide, or EGb761 combined with cisplatin or etoposide. Cell viability was measured by MTT assay, and apoptosis was measured by flow cytometry. The colorimetric method was used to detect the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) and the content of malondialdehyde (MDA) in cells. The protein expression of extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2), p-ERK1/2 and nuclear transcription factor-kappa B (NF-κB) p65 was determined by Western blot.

RESULTS: Monotherapy with each of EGb761, cisplatin and etoposide significantly inhibited the growth of SGC-7901 cells in a dose- and time-dependent manner. EGb761 significantly enhanced the inhibitory effect of cisplatin and etoposide on cell growth. Cells treated with EGb761 combined either cisplatin or EGb761 showed a significantly higher level of apoptosis than those treated with cisplatin or etoposide alone. Compared to the control group, the activities of SOD, GSH-Px and CAT were notably elevated (SOD: 16.57 U/mg prot ± 3.20 U/mg prot vs 25.96 U/mg prot ± 3.57 U/mg prot; CAT: 2.51 U/mg prot ± 0.32 U/mg prot vs 3.79 U/mg prot ± 0.55 U/mg prot; GSH-Px: 22.18 μmol/(min•mg) prot ± 4.36 μmol/(min•mg) prot vs 33.49 μmol/(min•mg) prot ± 5.64 μmol/(min•mg) prot; all $P < 0.05$) and the content of MDA was significantly decreased (2.46 nmol/mg prot ± 0.38 nmol/mg prot vs 1.42 nmol/mg prot ± 0.26 nmol/mg prot, $P < 0.05$) in cells treated with EGb761. The expression of ERK1/2, p-ERK1/2 and NF-κBp65 was significantly induced by cisplatin or etoposide, while EGb761 suppressed the expression of ERK1/2, p-ERK1/2 and NF-κBp65 induced by cisplatin or etoposide. The expression levels of ERK1/2, p-ERK1/2 and NF-κBp65 in the control group, cisplatin group, EGb761+ cisplatin group, etoposide group and EGb761+ etoposide group were as follows: ERK1/2: 0.496 ± 0.078, 0.831 ± 0.091, 0.521 ± 0.082, 0.816 ± 0.101, 0.489 ± 0.072; p-ERK1/2: 0.289 ± 0.032, 0.521 ± 0.068, 0.276 ±

■同行评议者

程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

0.049, 0.486 ± 0.087 , 0.298 ± 0.053 ; NF- κ Bp65: 0.268 ± 0.038 , 0.456 ± 0.08 , 0.276 ± 0.052 , 0.446 ± 0.076 , 0.229 ± 0.056).

CONCLUSION: EGb761 enhances cisplatin- and etoposide-induced apoptosis of SGC-7901 cells possibly by enhancing cellular antioxidant capacity and suppressing the up-regulation of ERK, p-ERK and NF- κ Bp65 protein expression.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: EGb761; Gastric cancer; Cisplatin; Etoposide; Apoptosis

Mao YB, Liu SQ, Tan L, Zhou Q, Huang JA. EGb761 enhances cisplatin- and etoposide-induced apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3330-3337 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3330.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3330>

摘要

目的: 探讨银杏叶提取物(ginkgo biloba extract, EGb761)对顺铂或足叶乙甙诱导的胃癌细胞SGC-7901的增殖和凋亡的影响及其机制。

方法: EGb761、顺铂和足叶乙甙单用或者顺铂、足叶乙甙联合应用EGb761处理人胃癌细胞株SGC-7901, 采用四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法检测细胞的增殖活性, 流式细胞仪检测细胞的凋亡, 化学比色法检测细胞中过氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量, 免疫印迹法检测细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylation of ERK, p-ERK)和核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)p65的表达。

结果: EGb761、顺铂、足叶乙甙对胃癌细胞的增殖均具有抑制作用, 呈时间剂量依赖性, 并明显诱导细胞的凋亡。EGb761可明显增强顺铂或足叶乙甙的细胞生长抑制作用并提高细胞的凋亡水平。EGb761能显著提高细胞中SOD、CAT和GSH-Px的活性[对照组和EGb761组SOD活性: $16.57 \text{ U/mg prot} \pm 3.20 \text{ U/mg prot}$ vs $25.96 \text{ U/mg prot} \pm 3.57 \text{ U/mg prot}$; CAT的活性: $2.51 \text{ U/mg prot} \pm 0.32 \text{ U/mg}$

prot vs $3.79 \text{ U/mg prot} \pm 0.55 \text{ U/mg prot}$; GSH-Px的活性: $22.18 \text{ } \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg}) \text{ prot} \pm 4.36 \text{ } \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg}) \text{ prot}$ vs $33.49 \text{ } \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg}) \text{ prot} \pm 5.64 \text{ } \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg}) \text{ prot}$; 均 $P < 0.05$], 降低MDA的含量(对照组和EGb761组MDA的含量 $2.46 \text{ nmol/mg prot} \pm 0.38 \text{ nmol/mg prot}$ vs $1.42 \text{ nmol/mg prot} \pm 0.26 \text{ nmol/mg prot}$, $P < 0.05$), 同时能明显抑制由顺铂和足叶乙甙诱导的ERK、p-ERK和NF- κ Bp65的表达(对照组、顺铂组、EGb761+顺铂组、足叶乙甙组和EGb761+足叶乙甙组ERK的表达: 0.496 ± 0.078 , 0.831 ± 0.091 , 0.521 ± 0.082 , 0.816 ± 0.101 , 0.489 ± 0.072 ; p-ERK的表达: 0.289 ± 0.032 , 0.521 ± 0.068 , 0.276 ± 0.049 , 0.486 ± 0.087 , 0.298 ± 0.053 ; NF- κ Bp65的表达: 0.268 ± 0.038 , 0.456 ± 0.08 , 0.276 ± 0.052 , 0.446 ± 0.076 , 0.229 ± 0.056)。

结论: EGb761可增强顺铂或足叶乙甙对胃癌细胞生长抑制作用并提高细胞的凋亡水平。EGb761可能是通过增强细胞抗氧化能力, 下调ERK、p-ERK和NF- κ Bp65的表达而发挥作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 银杏叶提取物; 胃癌; 顺铂; 足叶乙甙; 细胞凋亡

核心提示: 银杏叶提取物(Ginkgo biloba extract, EGb761)可增强顺铂或足叶乙甙对胃癌细胞生长抑制作用并提高细胞的凋亡水平。EGb761可能是通过增强细胞抗氧化能力, 下调细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase)、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylation of ERK)和核因子- κ B(nuclear factor kappa B)p65的表达而发挥作用。

毛业波, 刘诗权, 谭林, 周巧, 黄杰安. EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌SGC-7901细胞凋亡的增敏作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(31): 3330-3337 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3330.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3330>

0 引言

化疗作为治疗肿瘤的手段之一在胃癌的综合治疗中有重要的地位, 但多药耐药现象的普遍存在使化疗治疗面临着极大的困难。所以降低化疗耐药发生率, 提高化疗效果成为了胃癌治疗中急需解决的问题。最近有研究显示银杏叶提取物(extract of Ginkgo biloba, EGb)可增强大鼠

■研发前沿

银杏叶提取物能清除氧自由基, 减轻脂质过氧化, 增加抗氧化酶活性, 是较强的自由基清除剂, 研究表明, 银杏叶提取物对胃癌、口腔癌、乳腺癌、神经胶质瘤、肝癌和结肠癌等多种癌症具有抑制作用。

■相关报道

NF- κ B和MAPK通路参与调节细胞的增殖、分化以及维持细胞形态、凋亡等多种生理功能。化疗药可诱导胃癌细胞MAPK/ERK和NF- κ B信号通路的异常激活而降低胃癌细胞的化疗敏感性。

的抗氧化能力,并阻止胃癌癌前病变的进展^[1],而且银杏叶类黄酮能明显抑制人胃癌细胞的增殖,并诱导细胞凋亡^[2]。然而,EGb对胃癌化疗敏感性的影响还不明了。本研究在体外观察EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌细胞增殖和凋亡的影响,同时检测EGb761对胃癌细胞抗氧化能力以及细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylation of ERK, p-ERK)和核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)p65表达的影响,探讨EGb761对胃癌细胞化疗敏感性的影响及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料 EGb761购自威玛舒培博士药厂;人胃癌细胞株SGC-7901购自中国科学院上海细胞生物所;胎牛血清、DMEM(高糖型)均购自Hyclone公司;四氮唑蓝(MTT)购自北京索莱宝科技有限公司;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-fluorescein isothiocyanate, Annexin V-FITC)细胞凋亡检测试剂盒购自Roche公司;兔抗人ERK1/2、p-ERK多克隆抗体购自Cell Signaling Technology公司;兔抗人NF- κ Bp65多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔均购自Santa Cruz公司;氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒购自南京建成公司。

1.2 方法

1.2.1 MTT法检测细胞的增殖:取对数生长期的SGC-7901细胞,以 5×10^4 个/mL接种于96孔板,每孔200 μ L,每孔设5个复孔,培养12 h后,单药处理:分别单独加入不同终浓度的EGb761、顺铂或足叶乙甙,EGb761浓度为80、160、320、640和1280 μ g/mL,顺铂浓度为0.5、1、2、4和8 μ g/mL,足叶乙甙浓度为5、10、20、40和80 μ g/mL,处理12、24和48 h,并设不加药物的空白对照。联合处理:经0.5、1、2、4、8 μ g/mL顺铂或者5、10、20、40、80 μ g/mL足叶乙甙联合320 μ g/mL的EGb761处理24 h。处理后加入20 μ L浓度为5 mg/mL的MTT,继续培养4 h,弃上清。每孔加入二甲基亚砷150 μ L,振荡10 min。在酶标仪490 nm波长处检测各孔的吸光值(A值),计算细胞生存率。细胞生存率 = 加药孔A值/对照空A值 $\times 100\%$ 。

1.2.2 细胞凋亡的检测:将SGC-7901细胞分为对照组、EGb761组(320 μ g/mL)、顺铂组(2 μ g/mL)、足叶乙甙组(10 μ g/mL)、EGb761+顺铂组(320 μ g/mL EGb761+2 μ g/mL顺铂)和EGb761+足叶乙甙组(320 μ g/mL EGb761+10 μ g/mL足叶乙甙),处理24 h,收集各组细胞调整细胞数为 1×10^6 个/mL,用冷PBS洗涤细胞2次。加入结合缓冲液100 μ L、FITC 2 μ L和Annexin-V 2 μ L,室温避光15 min,进行流式细胞仪分析。

1.2.3 检测细胞中SOD、CAT、GSH-Px的活性及MDA的含量:收集细胞,将细胞悬浮于PBS中,用玻璃匀浆管在冰水浴条件,手动匀浆,取破碎好的匀浆液进行测定并按照说明书进行操作。

1.2.4 Western blot法检测细胞中ERK、p-ERK和NF- κ Bp65蛋白的表达:收集细胞,提取总蛋白,行聚丙烯酰胺凝胶电泳并转膜,脱脂奶粉进行封闭,加一抗4 $^{\circ}$ C振荡孵育过夜,再用辣根过氧化物酶标记的二抗37 $^{\circ}$ C孵育1 h,采用增强化学发光盒检测杂交信号,X线医学胶片上曝光显影,成像系统拍照,图像分析软件测量A值,以磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,蛋白相对表达强度 = 目的蛋白A值/GAPDH A值。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析。所有实验均重复3次,数据以mean \pm SD差表示。两个均数比较采用ANOVA检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 顺铂、足叶乙甙或EGb761对SGC-7901细胞的增殖抑制作用 EGb761、顺铂或足叶乙甙对胃癌SGC-7901细胞均具有抑制作用,并呈时间剂量依赖性(图1)。

2.2 EGb761显著增强顺铂和足叶乙甙对胃癌细胞生长抑制作用 采用320 μ g/mL EGb761与不同浓度的顺铂或足叶乙甙联合处理细胞24 h后,细胞生长抑制作用较顺铂或足叶乙甙单用时明显增强,与单独作用时差异具有统计学意义($P < 0.01$,图2)。由此可见,顺铂或者足叶乙甙联合应用EGb761能进一步抑制胃癌细胞的生长。

2.3 EGb761可显著增强顺铂或足叶乙甙诱导的胃癌细胞凋亡 与对照组比较,EGb761组、顺铂组和足叶乙甙组明显抑制细胞凋亡($P < 0.01$),而EGb761联合顺铂组和EGb761联合足叶乙甙组凋亡率均显著高于单用药组($P < 0.01$,图3)。

2.4 细胞中SOD、CAT、GSH-Px的活性及MDA

表 1 细胞中SOD、CAT、GSH-Px的活性及MDA含量的变化 (mean ± SD)

分组	SOD(U/mg prot)	CAT(U/mg prot)	GSH-Px[μmol/(min·mg) prot]	MDA(nmol/mg prot)
对照组	16.57 ± 3.20	2.51 ± 0.32	22.18 ± 4.36	2.46 ± 0.38
EGb761组	25.96 ± 3.57 ^a	3.79 ± 0.55 ^a	33.49 ± 5.64 ^a	1.42 ± 0.26 ^a
顺铂组	17.36 ± 3.13	2.56 ± 0.37	23.98 ± 3.35	2.27 ± 0.39
足叶乙甙组	16.23 ± 2.79	2.61 ± 0.48	22.87 ± 4.34	2.33 ± 0.45
EGb761+顺铂组	27.35 ± 4.84 ^{ac}	3.91 ± 0.59 ^{ac}	34.68 ± 6.56 ^{ac}	1.39 ± 0.25 ^{ac}
EGb761+足叶乙甙组	26.40 ± 4.27 ^{ae}	3.84 ± 0.62 ^{ae}	35.33 ± 5.90 ^{ae}	1.40 ± 0.23 ^{ae}

^a*P* < 0.05 vs 对照组; ^c*P* < 0.05 vs 顺铂组; ^e*P* < 0.05 vs 足叶乙甙组. EGb761: 银杏叶提取物; SOD: 氧化物歧化酶; CAT: 过氧化氢酶; GSH-Px: 谷胱甘肽过氧化物酶; MDA: 丙二醛.

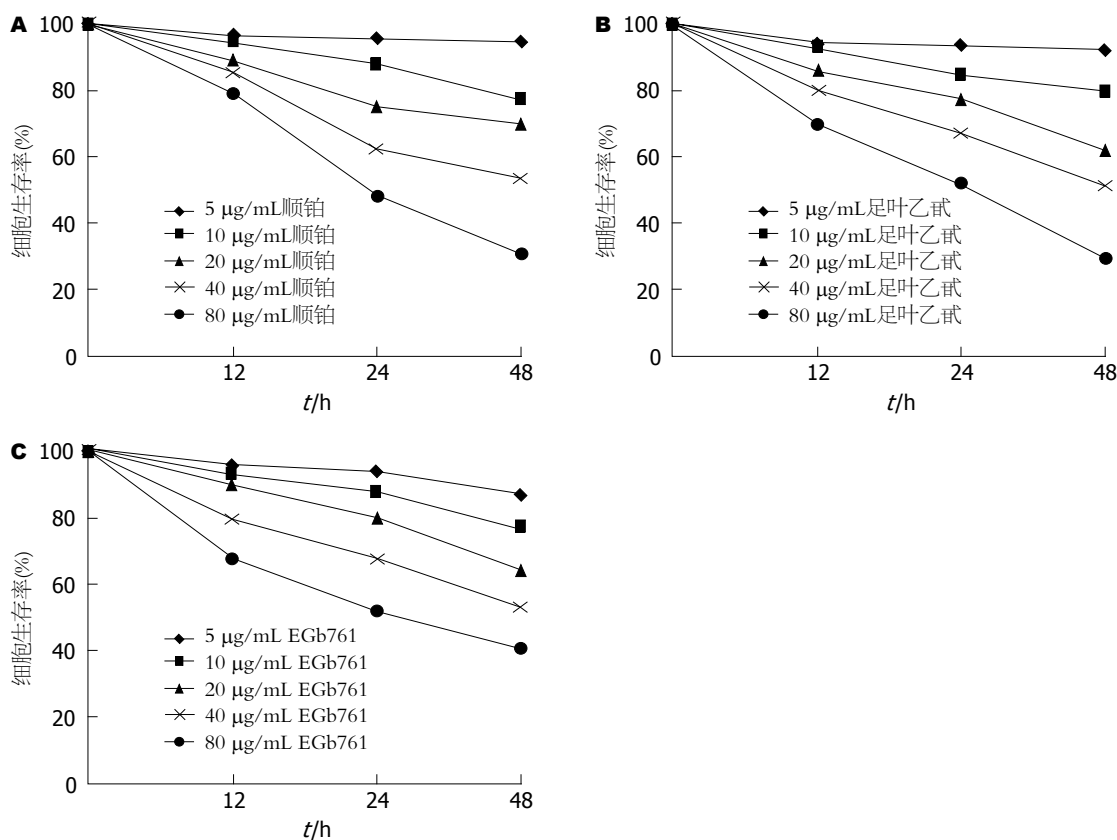


图 1 顺铂、足叶乙甙或EGb761对SGC-7901生存率的影响. A: 顺铂组; B: 足叶乙甙组; C: EGb761组. EGb761: 银杏叶提取物.

含量的变化 与对照组比较, 顺铂组和足叶乙甙组SOD、GSH-Px、CAT的活性和MDA含量改变无显著性, 差异无统计学意义(*P* > 0.05), 而EGb761组、EGb761+顺铂组、EGb761+足叶乙甙组SOD、GSH-Px和CAT的活性均明显升高, 而MDA的含量则显著减少, 差异有统计学意义(*P* < 0.05). EGb761+顺铂组与单用顺铂组比较, EGb761+足叶乙甙组与单用足叶乙甙组比较, SOD、GSH-Px和CAT的活性均明显升高而MDA的含量显著减少, 差异具有统计学意义(*P* < 0.05, 表1).

2.5 ERK、p-ERK以及NF-κBp65的表达 SGC-7901细胞中存在一定基础的ERK和磷酸化ERK和NF-κBp65蛋白表达, 顺铂或足叶乙甙作用后, ERK、p-ERK和NF-κBp65表达较对照组显著增强, 而EGb761联合顺铂或者足叶乙甙, 能够显著抑制ERK和磷酸化ERK以及NF-κBp65的表达(*P* < 0.05, 图4).

3 讨论

我国是胃癌高发区, 早期胃癌诊断困难, 大部分患者就诊时已是届期, 需采取化疗为主的综合

■创新盘点

本文从MAPK信号通路中ERK和p-ERK以及NF-κBp65的表达变化, 来观察EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌细胞增殖及凋亡的作用, 并探讨其可能的分子机制.

■应用要点

增强细胞抗氧化能力, 下调ERK、p-ERK和NF- κ Bp65的表达, 可能是EGb761对顺铂和足叶乙甙诱导的胃癌细胞凋亡的增敏作用的机制之一。本研究有助于了解EGb761对胃癌化疗效果的影响, 为提高胃癌化疗敏感性提供新思路。

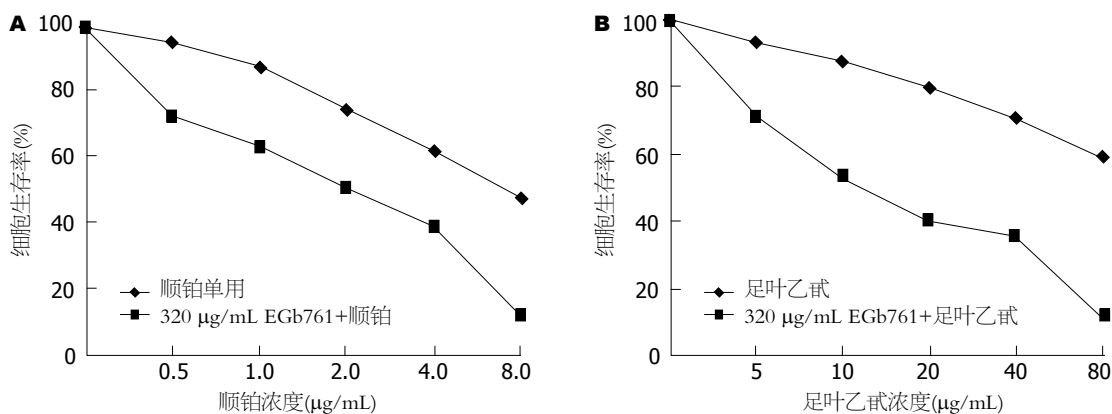


图2 EGb761联合顺铂或者足叶乙甙对SGC-7901生存率的影响. A: EGb761+顺铂组; B: EGb761+足叶乙甙组. EGb761: 银杏叶提取物.

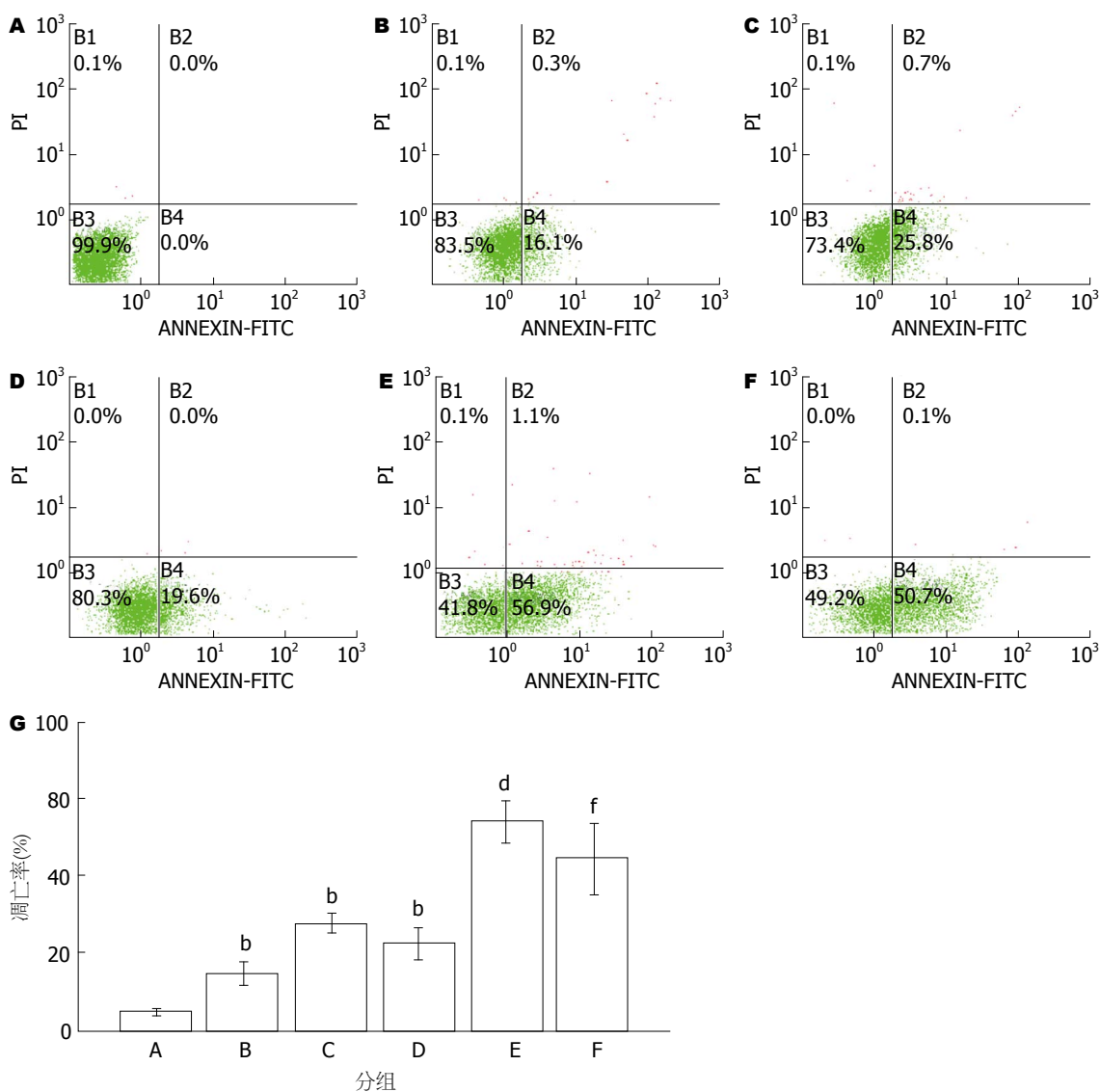


图3 流式细胞仪检测SGC-7901细胞的凋亡. A: 对照组; B: EGb761组; C: 顺铂组; D: 足叶乙甙组; E: EGb761+顺铂组; F: EGb761+足叶乙甙组. ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 顺铂组; ^f $P < 0.01$ vs 足叶乙甙组. EGb761: 银杏叶提取物.

治疗, 然而胃癌细胞易对化疗药产生耐药性, 严重制约了化疗药物的应用. 因此, 寻找一种高效

低毒的化疗方案是目前研究的焦点^[3]. 银杏叶在我国用于入药已有数千年历史, EGb的主要成

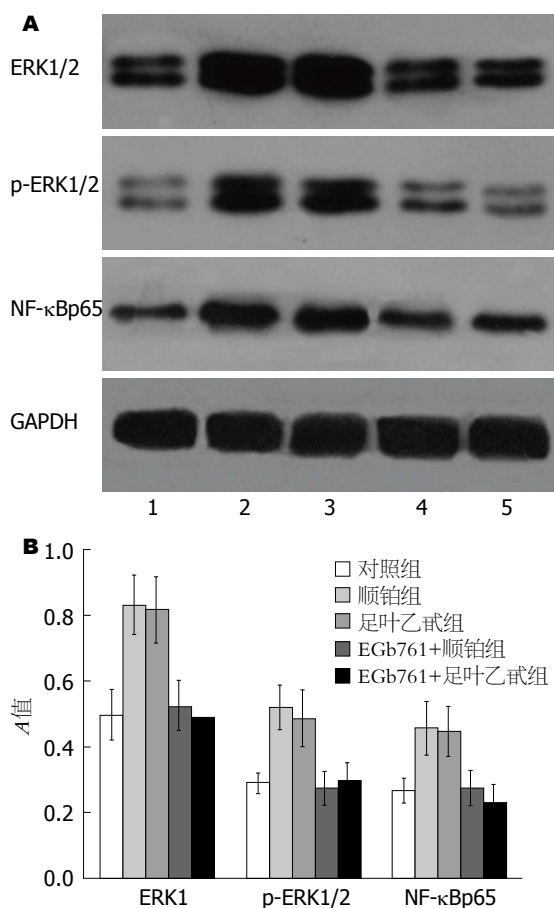


图 4 ERK、p-ERK和NF-κB蛋白的表达情况. A: Western blot结果; B: 各蛋白A值. 1: 对照组; 2: 顺铂组; 3: 足叶乙甙组; 4: EGb761+顺铂组; 5: EGb761+足叶乙甙组. EGb761: 银杏叶提取物; NF-κBp65: 核因子-κBp65; ERK1/2: 细胞外信号调节激酶; p-ERK1/2: 磷酸化细胞外信号调节激酶; GAPDH: 磷酸甘油醛脱氢酶.

分是黄酮类化合物和萜烯. 目前国际上将银杏叶提取物标准品命名为EGb761, 其中银杏黄酮 $\geq 24\%$, 槲皮素与山奈酚峰比在0.8-1.5之间, 银杏总内酯 $\geq 6\%$, 银杏酸 < 5 ppm. EGb多用于治疗脑供血不足^[4]、老年人轻度认知障碍^[5]、Parkinson's病^[6]以及痴呆^[7]等多因素所致的疾病. 近年来的许多基础及临床研究发现EGb对多种肿瘤具有抑制作用, EGb761可以有效抑制白血病细胞的增殖活性^[8], 诱导口腔癌细胞^[9]、人乳腺癌细胞^[10,11]、神经胶质瘤和肝癌细胞的凋亡^[12,13], 能够诱导结肠癌周期G₀/G₁的停滞和细胞凋亡^[14], EGb可降低阿霉素的心脏不良反应, 可用于辅助化疗^[15]. 本研究结果提示, EGb761和顺铂或足叶乙甙联合应用时, 细胞生存率明显降低且凋亡率显著增高, 表明EGb761能增强胃癌细胞的化疗敏感性.

研究表明EGb761能清除氧自由基, 减轻脂

质过氧化, 增加抗氧化酶活性, 是较强的自由基清除剂^[16], 而由自由基引起的组织损伤和细胞结构的破坏在肿瘤的发生进程中起着重要作用^[17]. 氧自由基的活化能够引起胃非黏液性瘤癌变, 而极低的抗氧化能力可导致胃黏液腺瘤癌变^[18]. 实验结果显示EGb761能明显提高SOD、GSH-Px和CAT的活性并降低MDA的含量, 显示EGb761可能是通过抗氧化应激增强胃癌化疗敏感性.

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是机体正常代谢不断产生的产物, 正常情况下由于自由基清除酶的存在, 不会造成细胞损伤, 但许多癌细胞比正常细胞新陈代谢快, 这通常导致ROS数量显著增加, 可诱导DNA损伤^[19]. 氧自由基造成的DNA损伤被认为是肿瘤发生和发展的重要原因^[17]. ROS的产生超过细胞的防护系统, 一些信号蛋白激酶和转录调节因子被激活, 包括ERK^[20,21]和NF-κB^[22,23]. NF-κB和ERK虽然是不同的信号转导通路, 但Kefaloyianni等^[24]证实氧化应激是两条途径的交叉应答, ERK信号级联反应激活后由胞质转位入胞核, 作用于核转录因子NF-κB等调控基因表达. 我们以前研究表明NF-κB和MAPK通路参与调节细胞的增殖、分化以及维持细胞形态、凋亡等多种生理功能, 并且MAPK/ERK和NF-κB通路的活化与肿瘤的发生发展、肿瘤细胞的侵袭转移密切相关^[25,26]. 此外, 我们以前的研究也发现EGb不但可以阻断氧化应激, 还可以抑制NF-κB通路的活化^[27,28], 而化疗药可诱导胃癌细胞MAPK/ERK和NF-κB信号通路的异常激活而降低胃癌细胞的化疗敏感性^[29,30]. 本实验显示EGb761能增强胃癌细胞的抗氧化能力, 有效抑制ERK、p-ERK和NF-κB的表达. 表明EGb761可能是通过增强胃癌细胞的抗氧化能力, 进而抑制ERK和NF-κB通路的活化, 从而提高胃癌细胞化疗敏感性.

4 参考文献

- Jiang XY, Qian LP, Zheng XJ, Xia YY, Jiang YB, Sun da Y. Interventional effect of Ginkgo biloba extract on the progression of gastric precancerous lesions in rats. *J Dig Dis* 2009; 10: 293-299 [PMID: 19906108 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00398.x]
- 张凤, 杨桂文, 张金凤, 安利国. 银杏叶类黄酮对人胃癌细胞BGC823体外的增殖抑制作用. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2627-2629
- Kasibhatla S, Tseng B. Why target apoptosis in cancer treatment? *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 573-580 [PMID: 12813137]
- Vilar JB, Leite KR, Chen Chen L. Antimutagenicity protection of Ginkgo biloba extract (Egb 761)

■同行评价

银杏叶提取物EGb可增强大鼠的抗氧化能力, 并阻止胃癌癌前病变的进展, 而且银杏叶类黄酮能明显抑制人胃癌细胞的增殖, 并诱导细胞凋亡. EGb761能增强胃癌细胞的抗氧化能力, 有效抑制ERK、p-ERK和NF-κB的表达. 表明EGb761可能是通过增强胃癌细胞的抗氧化能力, 进而抑制ERK和NF-κB通路的活化, 从而提高胃癌细胞化疗敏感性, 具有一定的指导意义.

- against mitomycin C and cyclophosphamide in mouse bone marrow. *Genet Mol Res* 2009; 8: 328-333 [PMID: 19440968]
- 5 MacLennan KM, Darlington CL, Smith PF. The CNS effects of Ginkgo biloba extracts and ginkgolide B. *Prog Neurobiol* 2002; 67: 235-257 [PMID: 12169298 DOI: S0301008202000151]
 - 6 El-Ghazaly MA, Sadik NA, Rashed ER, Abd El-Fattah AA. Neuroprotective effect of EGb761(R) and low-dose whole-body γ -irradiation in a rat model of Parkinson's disease. *Toxicol Ind Health* 2013 May 21. [Epub ahead of print] [PMID: 23696346 DOI: 10.1177/0748233713487251]
 - 7 Rainer M, Mucke H, Schlaefke S. Ginkgo biloba extract EGb 761 in the treatment of dementia: a pharmacoeconomic analysis of the Austrian setting. *Wien Klin Wochenschr* 2013; 125: 8-15 [PMID: 23292640 DOI: 10.1007/s00508-012-0307-x]
 - 8 Feng X, Zhang L, Zhu H. Comparative anticancer and antioxidant activities of different ingredients of Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Planta Med* 2009; 75: 792-796 [PMID: 19288403 DOI: 10.1055/s-0029-1185451]
 - 9 Kang JW, Kim JH, Song K, Kim SH, Yoon JH, Kim KS. Kaempferol and quercetin, components of Ginkgo biloba extract (EGb 761), induce caspase-3-dependent apoptosis in oral cavity cancer cells. *Phytother Res* 2010; 24 Suppl 1: S77-S82 [PMID: 19585476 DOI: 10.1002/ptr.2913]
 - 10 Yi SY, Nan KJ, Chen SJ. [Effect of extract of Ginkgo biloba on doxorubicin-associated cardiotoxicity in patients with breast cancer]. *Zhongguo Zhongxi yi Jiehe Zazhi* 2008; 28: 68-70 [PMID: 18418975]
 - 11 Park YJ, Kim MJ, Kim HR, Yi MS, Chung KH, Oh SM. Chemopreventive effects of Ginkgo biloba extract in estrogen-negative human breast cancer cells. *Arch Pharm Res* 2013; 36: 102-108 [PMID: 23335025 DOI: 10.1007/s12272-013-0002-0]
 - 12 Pretner E, Amri H, Li W, Brown R, Lin CS, Makariou E, Defeudis FV, Drieu K, Papadopoulos V. Cancer-related overexpression of the peripheral-type benzodiazepine receptor and cytostatic anticancer effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Anticancer Res* 2006; 26: 9-22 [PMID: 16475673]
 - 13 Li W, Pretner E, Shen L, Drieu K, Papadopoulos V. Common gene targets of Ginkgo biloba extract (EGb 761) in human tumor cells: relation to cell growth. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002; 48: 655-662 [PMID: 12396076]
 - 14 Chen XH, Miao YX, Wang XJ, Yu Z, Geng MY, Han YT, Wang LX. Effects of Ginkgo biloba extract EGb761 on human colon adenocarcinoma cells. *Cell Physiol Biochem* 2011; 27: 227-232 [PMID: 21471711 DOI: 10.1159/000327948]
 - 15 Liu TJ, Yeh YC, Ting CT, Lee WL, Wang LC, Lee HW, Wang KY, Lai HC, Lai HC. Ginkgo biloba extract 761 reduces doxorubicin-induced apoptotic damage in rat hearts and neonatal cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 2008; 80: 227-235 [PMID: 18632596 DOI: 10.1093/cvr/cvn192]
 - 16 Mahadevan S, Park Y. Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L.: chemistry, efficacy, safety, and uses. *J Food Sci* 2008; 73: R14-R19 [PMID: 18211362 DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00597.x]
 - 17 Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 37-56 [PMID: 15646026]
 - 18 Wang SH, Wang YZ, Zhang KY, Shen JH, Zhou HQ, Qiu XY. Effect of superoxide dismutase and malondialdehyde metabolic changes on carcinogenesis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4305-4310 [PMID: 16038025]
 - 19 Scott TL, Rangaswamy S, Wicker CA, Izumi T. Repair of oxidative DNA damage and cancer: recent progress in DNA base excision repair. *Antioxid Redox Signal* 2013 Oct 15. [Epub ahead of print] [PMID: 23901781 DOI: 10.1089/ars.2013.5529]
 - 20 Xiao H, Wang J, Yuan L, Xiao C, Wang Y, Liu X. Chicoric acid induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes through ROS-mediated PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *J Agric Food Chem* 2013; 61: 1509-1520 [PMID: 23363008 DOI: 10.1021/jf3050268]
 - 21 Conde de la Rosa L, Schoemaker MH, Vrenken TE, Buist-Homan M, Havinga R, Jansen PL, Moshage H. Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: involvement of JNK and ERK MAP kinases. *J Hepatol* 2006; 44: 918-929 [PMID: 16310883 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.07.034]
 - 22 Sfikas A, Batsi C, Tselikou E, Vartholomatos G, Monokrousos N, Pappas P, Christoforidis S, Tzavaras T, Kanavaros P, Gorgoulis VG, Marcu KB, Kolettas E. The canonical NF- κ B pathway differentially protects normal and human tumor cells from ROS-induced DNA damage. *Cell Signal* 2012; 24: 2007-2023 [PMID: 22750558 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.06.010]
 - 23 Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Role of nuclear factor kappaB and mitogen-activated protein kinase signaling in exercise-induced antioxidant enzyme adaptation. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32: 930-935 [PMID: 18059618 DOI: 10.1139/H07-098]
 - 24 Kefaloyianni E, Gaitanaki C, Beis I. ERK1/2 and p38-MAPK signalling pathways, through MSK1, are involved in NF-kappaB transactivation during oxidative stress in skeletal myoblasts. *Cell Signal* 2006; 18: 2238-2251 [PMID: 16806820 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.05.004]
 - 25 Liu SQ, Huang JA, Qin MB, Su YJ, Lai MY, Jiang HX, Tang GD. Sphingosine kinase 1 enhances colon cancer cell proliferation and invasion by upregulating the production of MMP-2/9 and uPA via MAPK pathways. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1569-1578 [PMID: 22684547 DOI: 10.1007/s00384-012-1510-y]
 - 26 刘诗权, 覃蒙斌, 钟月圆, 黄杰安, 唐国都, 姜海行. 鞘氨醇激酶-1调控ERK和NF- κ B通路促进HT-29细胞的增殖和侵袭. *中国现代医学杂志* 2011; 21: 1849-1853
 - 27 Liu SQ, Yu JP, Chen HL, Luo HS, Chen SM, Yu HG. Therapeutic effects and molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract on liver fibrosis in rats. *Am J Chin Med* 2006; 34: 99-114 [PMID: 16437743 DOI: 10.1142/S0192415X06003679]
 - 28 刘诗权, 于皆平, 罗和生, 冉宗学. 银杏叶萃取物对大鼠纤维化肝脏NF- κ B的影响. *世界华人消化* 2002; 10: 992-926
 - 29 Liu SQ, Yu JP, Yu HG, Lv P, Chen HL. Activation of Akt and ERK signalling pathways induced by etoposide confer chemoresistance in gastric cancer cells. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 310-318 [PMID: 16527552 DOI: 10.1016/j.dld.2006.01.012]
 - 30 Manu KA, Shanmugam MK, Ramachandran L, Li F, Fong CW, Kumar AP, Tan P, Sethi G. First

evidence that γ -tocotrienol inhibits the growth of human gastric cancer and chemosensitizes it to capecitabine in a xenograft mouse model through

the modulation of NF- κ B pathway. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2220-2229 [PMID: 22351692 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2470]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

甘草酸二铵联用红花注射液对大鼠溃疡性结肠炎炎症的影响

原皓, 王鹤鸣, 韩雪

■背景资料

溃疡性结肠炎的病理表现为结肠黏膜的非特异性炎症, 同时还存在局部的微循环障碍, 因此, 抗炎及改善微循环的联合治疗应该有较好的疗效。甘草酸二铵具有抗炎作用, 红花注射液具有改善血液循环等作用。因此, 本研究将甘草酸二铵与红花注射液联合应用于大鼠溃疡性结肠炎的治疗, 观察其疗效, 为临床应用提供实验依据。

原皓, 王鹤鸣, 韩雪, 潍坊医学院临床学院 山东省潍坊市 261042

原皓, 副教授, 主要从事消化系统疾病的研究。

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2010HM089

作者贡献分布: 此课题由原皓设计; 研究过程由王鹤鸣与韩雪共同完成; 数据分析由王鹤鸣完成; 本论文写作由原皓与王鹤鸣共同完成。

通讯作者: 原皓, 副教授, 261031, 山东省潍坊市虞河路465号, 潍坊医学院临床学院。91chuan@163.com
电话: 0536-8068912

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-09-25

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-08

Therapeutic effects of diammonium glycyrrhizinate combined with safflower solution on ulcerative colitis in rats

Hao Yuan, He-Ming Wang, Xue Han

Hao Yuan, He-Ming Wang, Xue Han, Weifang Medical College, Weifang 261042, Shandong Province, China
Supported by: the Shandong Provincial Natural Science Foundation, No. ZR2010HM089

Correspondence to: Hao Yuan, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, 465 Yuhe Road, Weifang 261031, Shandong Province, China. 91chuan@163.com

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-09-25

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To evaluate the therapeutic effects of diammonium glycyrrhizinate (DG) combined with safflower solution (SS) on experimental colitis and on the expression of interleukin-8 (IL-8) in rats.

METHODS: Forty Sprague-Dawley rats were randomized into a normal control group, a treatment group (DG combined with SS), a DG group and a TNBS control group, with 10 rats in each group. Colitis was induced by rectal administration of TNBS in rats in the treatment group, DG group and TNBS control group. Rats

in the treatment group were treated with DG (40 mg/kg) and SS (400 mg/kg) every day, and the DG group was treated with DG (40 mg/kg) every day. Disease activity index (DAI) and histological damage score were calculated, and the expression of IL-8 in colon tissues was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: In the normal control group, treatment group, DG group and TNBS control group, DAIs were 1.4 ± 0.3 , 2.4 ± 0.2 , 3.8 ± 0.4 and 7.6 ± 0.9 , respectively; histological damage scores were 1.5 ± 0.4 , 2.4 ± 0.4 , 3.7 ± 0.6 and 6.3 ± 1.1 , respectively; and the positive percentages of IL-8 were $15.7\% \pm 3.7\%$, $20.8\% \pm 4.7\%$, $34.7\% \pm 4.9\%$ and $56.4\% \pm 6.9\%$, respectively. Compared with the TNBS control group, DAI and histological injury scores were significantly improved in the treatment group and DG group, and the expression of IL-8 was decreased significantly in the treatment group ($P < 0.01$ or < 0.05). Compared with the DG group, DAI and histological damage scores were significantly improved and the expression of IL-8 was decreased significantly in the treatment group ($P < 0.01$ or < 0.05).

CONCLUSION: DG combined with SS exerts a better effect than DG alone in the treatment of experimental ulcerative colitis in rats, and the underlying mechanism is possibly associated with affecting the expression of IL-8.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Diammonium glycyrrhizinate; Safflower solution; Microcirculation; Interleukin-8

Yuan H, Wang HM, Han X. Therapeutic effects of diammonium glycyrrhizinate combined with safflower solution on ulcerative colitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3338-3343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3338.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3338>

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院
消化内科

摘要

目的: 建立2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠模型, 对比甘草酸二铵(diammonium glycyrrhizinate, DG)联合红花注射液(safflower solution, SS)与单用DG的疗效及对促炎因子白介素-8(interleukin-8, IL-8)表达的影响, 从而探讨抗炎药DG联合改善微循环的SS治疗UC的价值。

方法: 40只健康SD大鼠随机分为正常对照组、实验组(DG+SS)、DG组和模型组, 每组10只。实验组、模型组、DG组大鼠用2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)灌肠复制溃疡性结肠炎模型, 实验组每天给予40 mg/kg DG加400 mg/kg SS腹腔注射干预治疗, DG组每天给予40 mg/kg DG治疗, 正常对照组及模型对照组给予等容积生理盐水腹腔注射。10 d后观察大鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)及结肠组织学变化, 并用免疫组织化学方法检测大鼠结肠IL-8的表达。

结果: 正常对照组、实验组(DG+SS)、模型组和DG组的DAI评分分别为 1.4 ± 0.3 、 2.4 ± 0.2 、 3.8 ± 0.4 和 7.6 ± 0.9 ; 组织学损伤评分分别为 1.5 ± 0.4 、 2.4 ± 0.4 、 3.7 ± 0.6 和 6.3 ± 1.1 ; IL-8阳性率分别为 $15.7\% \pm 3.7\%$ 、 $20.8\% \pm 4.7\%$ 、 $34.7\% \pm 4.9\%$ 和 $56.4\% \pm 6.9\%$ 。与模型组相比, 实验组与DG组的DAI和组织学表现显著改善, IL-8的表达显著降低($P < 0.01$), 而实验组又比DG组效果好($P < 0.05$), 经one-way ANOVA及SNK-*q*检验, 差异有统计学意义。

结论: DG联合SS对大鼠UC的疗效及对促炎因子IL-8表达的抑制作用均好于DG单独的作用, 提示抗炎联合改善微循环是一种较单用抗炎药物治疗UC的更有效的方法, 更有效地抑制IL-8的生成及改善微循环是其可能的机制之一。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 甘草酸二铵; 红花注射液; 微循环; 白介素-8

核心提示: 以往的研究显示甘草酸二铵治疗溃疡性结肠炎有良好的疗效, 本研究表明, 在用甘草酸二铵抗炎的同时加用改善微循环的中药红花注射液, 是一种较单独应用抗炎药物甘草酸二铵更有效的治疗溃疡性结肠炎方法, 该结果很值得做进一步的研究证实。

原皓, 王鹤鸣, 韩雪. 甘草酸二铵联用红花注射液对大鼠溃疡性结肠炎炎症的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3338-3343
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3338.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3338>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的病理表现为结肠黏膜的非特异性炎症, 同时还存在局部的微循环障碍^[1,2]。因此, 抗炎及改善微循环的联合治疗应该有较好的疗效, 如较多的研究显示抗凝药肝素对UC有独特的治疗作用^[3-5]。甘草酸二铵(diammonium glycyrrhizinate, DG)具有非特异性抗炎作用, 而且还有镇痛、保护膜结构调节免疫等生物活性, 我们的研究证实其对UC有良好的治疗作用^[6-9]。红花注射液(safflower solution, SS)具有抗炎、改善血液循环及抗细胞凋亡等生物学作用^[10-12]。因此, 本研究将DG与SS联合应用于大鼠UC的治疗, 观察其疗效及对促炎因子白介素-8(interleukin-8, IL-8)表达的影响, 并与单用DG进行比较, 以寻找更有效的治疗UC的中药组合。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠, 体质量 $230 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$, 4-5周龄, 由山东中医药大学实验动物中心提供。三硝基苯磺酸(trinitro-benzene-sulfonic acid, TNBS)购自美国Sigma公司, 批号: 068K5001, 相对分子量293.2, 试剂浓度为5%。兔抗大鼠IL-8多克隆抗体(bs-1378R)购自北京博奥森生物技术有限公司; SP免疫试剂盒(SP-9001)和浓缩型DAB试剂盒(ZLI-9032)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 甘草酸二铵(商品名: 甘利欣, 水针剂, 批号: H10940190)购自江苏正大天晴药业股份有限公司; 红花注射液(批号: Z14020783, 亚宝药业集团股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组并制作动物模型: 将40只SD大鼠随机分为4组: 正常对照组、实验组(DG+SS)、DG组和模型组, 每组10只, 禁食不禁水24 h, 10%水合氯醛 4.5 mL/kg 腹腔注射麻醉, 参照文献^[13], TNBS与无水乙醇以1:1比例混匀, 根据大鼠禁食后体质量将TNBS以 50 mg/kg 计算出实验组、DG组和模型组每只大鼠所需的混合药液体积, 用聚乙烯导管经肛门缓慢插入结肠8 cm后, 将混合药液注入肠腔, 正常对照组给予等容积生

■ 研发前沿

溃疡性结肠炎的传统治疗药物如糖皮质激素等, 疗效虽好, 但长期应用不良反应较多, 因此, 寻找有效且不良反应少的药物及治疗方法一直是溃疡性结肠炎研究的热点之一。

■相关报道

甘草酸二铵具有非特异抗炎等作用,我们课题组将其用于溃疡性结肠炎的治疗,发现其对溃疡性结肠炎大鼠的炎症、免疫及凋亡等均有影响,是一种有效的治疗药物。我们初步的研究显示红花注射液对大鼠溃疡性结肠炎有良好的疗效并能促进结肠黏膜的修复。

表 1 DAI、组织学损伤评分及IL-8表达的测定结果 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	DAI评分	组织学损伤评分	IL-8阳性率(%)
正常对照组	1.4 \pm 0.3	1.5 \pm 0.4	15.7 \pm 3.7
实验组	2.4 \pm 0.2 ^{ab}	2.4 \pm 0.4 ^{ab}	20.8 \pm 4.7 ^{ab}
模型组	7.6 \pm 0.9	6.3 \pm 1.1	56.4 \pm 6.9
甘草酸二铵组	3.8 \pm 0.4 ^a	3.7 \pm 0.6 ^a	34.7 \pm 4.9 ^a

^a $P < 0.05$ vs 甘草酸二铵组; ^b $P < 0.01$ vs 模型对照组。IL-8: 白介素-8。

理盐水。根据人与大鼠的药物剂量折算系数算出DG及SS的应用剂量^[14],并用生理盐水稀释至2 mL,腹腔注入;造模当天作为第1天,实验组第1至10天腹腔每天注射DG(40 mg/kg)及SS(400 mg/kg);DG组第1至10天腹腔每天注射DG(40 mg/kg);正常对照组及模型组第1至10天腹腔每天注射2 mL生理盐水。

1.2.2 标本制备:造模第10天时,处死动物,取距肛门约8 cm长结肠,沿肠系膜纵轴剪开,冷生理盐水冲洗干净,滤纸吸干称重。以4%多聚甲醛固定,每段结肠自距肛门1 cm、3 cm处取2块组织标本(2 mm \times 10 mm),另于炎症严重或溃疡处取1块组织标本,石蜡包埋、切片(4 μ m),HE染色观察组织学改变,免疫组织化学染色观察结肠组织IL-8的表达。

1.2.3 结肠炎症评价:采用疾病活动指数(disease activity index, DAI)及组织学损伤评分来评价结肠炎症。(1)DAI评分:造模后10 d,综合大鼠体重下降百分率(体重不变为0分,下降1%-5%为1分,6%-10%为2分,11%-15%为3分,>15%为4分)、大便粘稠度(正常为0分,松散大便为2分,腹泻为4分)和大便出血(正常0分,隐血阳性为2分,显性出血为4分)进行积分^[15];(2)组织学损伤评分:选10个视野(100倍)平均评分。评分标准:正常结肠黏膜记0分;隐窝缺损1/3时记1分;隐窝缺损2/3时记2分;固有层覆盖单层上皮伴轻度炎性细胞浸润记3分;黏膜糜烂、溃疡伴显著炎性细胞浸润记4分。

1.2.4 大鼠结肠黏膜组织IL-8的检测:根据试剂使用说明书,免疫组织化学法检测大鼠结肠黏膜组织IL-8的表达。IL-8阳性细胞表现为胞质呈棕褐色。封片后,每张切片随机选取5个高倍视野,共计数1000个细胞,计算阳性细胞百分比。

统计学处理 用SPSS16.0软件进行统计分析,计量数据以mean \pm SD表示,对数据先行one-way

ANOVA检验,再用SNK- q 检验进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠疾病活动指数 造模后1-2 d大鼠出现活动及进食减少,体质量减轻,大便稀并有脓血便,肛周污秽。治疗后,实验组及DG组大鼠上述症状明显减轻,5-7 d后粪便基本恢复正常,肛周干净。第10天时,对各组大鼠进行疾病活动指数评分,结果显示,与正常对照组相比,实验组(DG+SS)、DG组和模型组的DAI评分显著升高;与模型对照组相比,实验组、DG组的DAI评分均显著改善($P < 0.01$);而与DG组相比,实验组改善效果更好($P < 0.05$)(表1)。

2.2 病理组织学改变 处死大鼠,解剖发现,与正常对照组对比,造模后的大鼠结肠黏膜充血水肿、肠壁增厚,黏膜散在溃疡形成,实验组及DG组的大鼠结肠轻度肿胀,溃疡较浅,较模型组损伤明显减轻,其中治疗组的肠壁水肿及肠壁增厚程度又明显轻于DG组,说明DG联用SS能更好地减轻炎症水肿。镜下观察发现,模型组大鼠结肠部分黏膜上皮脱落,大量炎性细胞浸润,溃疡形成(说明造模成功)。而与模型组相比,实验组及DG组大鼠结肠黏膜上皮得到不同程度的修复,炎性细胞浸润明显减轻($P < 0.01$),而且实验组效果要比DG好($P < 0.05$)(表1)。

2.3 结肠组织IL-8表达结果 IL-8阳性表达的细胞有中性粒细胞、单核细胞等,多集中于靠近黏膜肌层的黏膜固有层内,黏膜上皮细胞仅有少量表达,IL-8阳性细胞表现以胞质呈棕褐色为主(图1)。与正常对照组相比,造模后的大鼠结肠IL-8表达明显增高($P < 0.01$);与模型对照组相比,实验组和DG组的结肠黏膜IL-8表达明显降低($P < 0.01$);而与DG组相比,实验组IL-8的表达明显减少($P < 0.05$)(表1)。

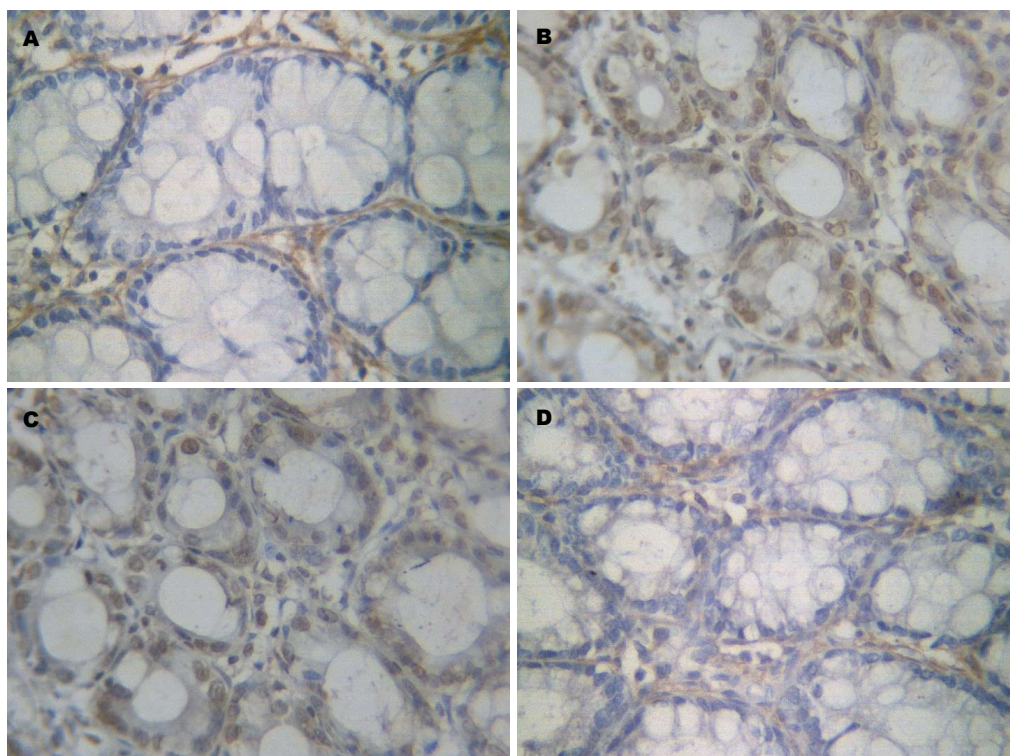


图1 各组大鼠结肠黏膜IL-8的表达(SP×200). A: 实验组; B: 模型组; C: DG组; D: 正常对照组. IL-8: 白介素-8; DG: 甘草酸二铵.

■创新盘点

本研究从溃疡性结肠炎两个基本的病理变化炎症及微循环障碍这个角度, 以有效且不良反应小为选药原则, 设计了以具有抗炎作用的甘草酸二铵及具有改善微循环作用的红花注射液联合治疗溃疡性结肠炎的治疗方案, 这是本研究的创新点.

3 讨论

UC是一种主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症, 以腹痛、腹泻、黏液血便、里急后重为主要临床表现^[16,17], 病程迁延不愈甚至有发生癌变的可能^[18], 因此他一直是消化专业研究的热点之一.

UC的病理表现为大肠黏膜隐窝上皮变性、坏死, 嗜中性粒细胞侵及腺腔内形成隐窝脓肿, 固有膜中大量嗜中性粒细胞、淋巴细胞和浆细胞浸润. 黏膜出现广泛糜烂和溃疡, 溃疡周围血管增生、出血及血栓形成, 管壁纤维素样坏死^[19,20]. 由此可以看出, 炎症及微循环的损伤是UC的基本病理变化, 鉴于此, 我们研究了DG治疗UC的抗炎疗效^[1,2], 并在本研究中设计了DG联合SS治疗UC, 以期从抗炎及改善微循环两方面提高疗效. DG及SS均为中药制剂, 特点是不不良反应小, 甘草酸二铵具有抗炎作用, SS有效成分为脂肪酸、红花多糖及黄酮类等, 黄酮类又包括红花黄色素及羟基红花黄色素, 具有活血化瘀、改善血液循环等功效^[21-23], 临床上主要用于心脑血管疾病, 也用于糖尿病并发症、类风湿性关节炎等辅助治疗, 效果好且不良反应较少^[24-27]. 按照疗效好、不良反应少的选药原则, 本研究选择

了DG和SS. 结果显示DG联合SS确能明显提高疗效, 尤其是在改善肠壁水肿增厚上.

UC时肠道持续炎症损伤是UC的主要病理改变, 并以大量的炎性细胞浸润肠壁和持续活化为特征. IL-8是一种强有力的中性粒细胞趋化因子和活化因子, 在中性粒细胞介导的组织损伤中起重要作用, IL-8还能使血管通透性增高, 对嗜碱性粒细胞和T细胞也有一定的趋化作用^[28,29], 研究表明趋化因子IL-8在UC的发病中起重要作用^[30,31]. 研究发现在UC患者的血清和组织中, IL-8含量均明显升高, 且随病变范围的扩大和病变程度增加而增加; 而UC病情改善后, 血清IL-8含量也明显下降, 说明IL-8的变化对UC严重程度密切相关^[32-34]. 本研究表明, UC时结肠黏膜的IL-8升高, 与病情程度相关, DG能抑制IL-8的表达, 而联用SS能更显著地抑制IL-8的表达, 提示活血化瘀、改善微循环在抑制炎症反应方面具有协同作用.

总之, 治疗UC, 在抗炎的同时加用改善微循环的中药, 是一种较单独应用抗炎药物DG更有效的治疗方法, 很值得做进一步的研究证实.

4 参考文献

- 1 Rutella S, Fiorino G, Vetrano S, Correale C, Spinelli

■应用要点

甘草酸二铵及红花注射液均来源于中药提取物,其特点之一是不不良反应少,二者联合用于治疗溃疡性结肠炎,疗效显著且不良反应小,是一种很有潜力的治疗溃疡性结肠炎的有效药物和方法,但本研究结果在实际应用前,仍需要在临床上进一步的研究证实。

- A, Pagano N, Arena V, Maggiano N, Repici A, Malesci A, Danese S. Infliximab therapy inhibits inflammation-induced angiogenesis in the mucosa of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 762-770 [PMID: 21364546 DOI: 10.1038/ajg.2011.48]
- 2 Deng X, Tolstanova G, Khomenko T, Chen L, Tarnawski A, Szabo S, Sandor Z. Mesalamine restores angiogenic balance in experimental ulcerative colitis by reducing expression of endostatin and angiostatin: novel molecular mechanism for therapeutic action of mesalamine. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 331: 1071-1078 [PMID: 19762547 DOI: 10.1124/jpet.109.158022]
- 3 Gaffney PR, Doyle CT, Gaffney A, Hogan J, Hayes DP, Annis P. Paradoxical response to heparin in 10 patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 220-223 [PMID: 7847289]
- 4 吴先国, 林佐光, 张全超. 低分子肝素治疗难治性溃疡性结肠炎26例疗效观察. *现代医院* 2009; 9: 22-23
- 5 沈骏, 冉志华, 童锦禄, 萧树东. 肝素治疗溃疡性结肠炎有效性的系统评价. *胃肠病学* 2007; 12: 685-690
- 6 原皓, 林三仁, 吴克香, 顾芳, 张红梅, 高志星, 焦建新. 甘草酸二铵对大鼠结肠炎的抗炎作用机制研究. *中华消化杂志* 2006; 26: 22-25
- 7 原皓, 吴克香, 史有奎, 高志星, 冯玉光, 李蕾. 甘草酸二铵对溃疡性结肠炎大鼠促炎细胞因子IL-6、IL-8、TNF- α 的影响. *山东医药* 2006; 46: 5-6
- 8 原皓, 崔慎茹, 李时光. 甘草酸二铵对溃疡性结肠炎大鼠Foxp3 mRNA表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3301-3305
- 9 原皓, 王鹤鸣, 赵雪曼. 甘草酸二铵对溃疡性结肠炎大鼠M30表达的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3439-3444
- 10 Zhu YF, Luo HM, Deng ZL, Fu DY, Yao W, Dai J. [Effects of the Chinese patent medicine, Honghua Injection, on platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in patients with acute coronary syndrome: a randomized controlled trial]. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2012; 10: 318-323 [PMID: 22409922 DOI: 10.3736/jcim20120311]
- 11 Liu J, Zhang D, Li J, Feng J, Yang X, Shi D, Liang X. [Effects of Salvia miltiorrhiza and Carthamus tinctorius aqueous extracts and compatibility on rat myocardial ischemic reperfusion injury]. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 2011; 36: 189-194 [PMID: 21506421]
- 12 Li Y, Wang N. Antithrombotic effects of Danggui, Honghua and potential drug interaction with clopidogrel. *J Ethnopharmacol* 2010; 128: 623-628 [PMID: 20176099 DOI: 10.1016/j.jep.2010.02.003]
- 13 沃格尔 HG, 沃格尔 WH. 药理学实验指南-新药发现和药理学评价. 北京: 科学出版社, 2001: 664-666
- 14 许叔云, 卞如瀛, 陈修. 药理实验学. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 178-180
- 15 Porter SN, Howarth GS, Butler RN. An orally administered growth factor extract derived from bovine whey suppresses breath ethane in colitic rats. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 967-974 [PMID: 9759954 DOI: 10.1080/003655298750027001]
- 16 Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 204-211 [PMID: 9040192]
- 17 庄肇肇, 吕宾. 溃疡性结肠炎黏膜屏障损伤及其相关机制研究进展. *胃肠病学* 2012; 17: 506-508
- 18 Eaden J, Abrams K, Ekblom A, Jackson E, Mayberry J. Colorectal cancer prevention in ulcerative colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 145-153 [PMID: 10651654 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00698.x]
- 19 纪小龙, 申明识, 尹文. 溃疡性结肠炎与结肠克罗恩病病理诊断的鉴别要点. *诊断病理学杂志* 2002; 9: 245-247
- 20 彭仲生, 胡品津, 林汉良, 崔毅, 陈为. 活检病理对诊断溃疡性结肠炎的价值. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 1269-1273
- 21 王晓菲, 金鸣. 红花抗炎作用机制研究进展. *山西医药杂志* 2007; 36: 51-53
- 22 金鸣, 高子淳, 王继峰. 羟基红花黄色素A抑制PAF诱发的家兔血小板活化的研究. *北京中医药大学学报* 2004; 27: 32-35
- 23 Han SY, Li HX, Ma X, Zhang K, Ma ZZ, Tu PF. Protective effects of purified safflower extract on myocardial ischemia in vivo and in vitro. *Phytomedicine* 2009; 16: 694-702 [PMID: 19394208 DOI: 10.1016/j.phymed.2009.02.019]
- 24 Tien YC, Lin JY, Lai CH, Kuo CH, Lin WY, Tsai CH, Tsai FJ, Cheng YC, Peng WH, Huang CY. Carthamus tinctorius L. prevents LPS-induced TNF α signaling activation and cell apoptosis through JNK1/2-NF κ B pathway inhibition in H9c2 cardiomyoblast cells. *J Ethnopharmacol* 2010; 130: 505-513 [PMID: 20538053 DOI: 10.1016/j.jep.2010.05.038]
- 25 Wan LH, Chen J, Li L, Xiong WB, Zhou LM. Protective effects of Carthamus tinctorius injection on isoprenaline-induced myocardial injury in rats. *Pharm Biol* 2011; 49: 1204-1209 [PMID: 22014268 DOI: 10.3109/13880209.2011.576348]
- 26 黄翠玲, 何有娣. 红花注射液与甲钴胺联合治疗糖尿病周围神经病变的临床观察. *中国综合临床* 2006; 22: 889-891
- 27 Choi EM, Kim GH, Lee YS. Carthamus tinctorius flower extract prevents H₂O₂-induced dysfunction and oxidative damage in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Phytother Res* 2010; 24: 1037-1041 [PMID: 19960423]
- 28 Kamat AA, Bischoff FZ, Dang D, Baldwin MF, Han LY, Lin YG, Merritt WM, Landen CN, Lu C, Gershenson DM, Simpson JL, Sood AK. Circulating cell-free DNA: a novel biomarker for response to therapy in ovarian carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 1369-1374 [PMID: 16969071 DOI: 10.4161/cbt.5.10.3240]
- 29 贾长河, 许浚, 康谊. 溃疡性结肠炎患者血清IL-8、IL-10、TNF- α 的水平及临床意义. *中华实用诊断与治疗杂志* 2008; 22: 574-578
- 30 Banks C, Bateman A, Payne R, Johnson P, Sheron N. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pathol* 2003; 199: 28-35 [PMID: 12474223 DOI: 10.1002/path.1245]
- 31 MacDermott RP, Sanderson IR, Reinecker HC. The central role of chemokines (chemotactic cytokines) in the immunopathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 1998; 4: 54-67 [PMID: 9552229 DOI: 10.1097/00054725-199802000-00009]
- 32 宋爱玲. TNF- α 、IL-6、IL-8与溃疡性结肠炎严重程

- 度相关研究. 中国实用医药 2008; 3: 3-5
- 33 谭彬, 赵己未. 溃疡性结肠炎患者血清IL-13、IL-8的水平变化及意义. 临床医学工程 2012; 4: 45-47

- 34 冯百岁, 刘占举, 牛正先. 美沙拉秦治疗溃疡性结肠炎的临床疗效及对血清TNF- α 和IL-8的影响. 郑州大学学报(医学版) 2006; 41: 830-832

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



■同行评价

本课题研究甘草酸二铵联用红花注射液对大鼠溃疡性结肠炎炎症的影响, 设计合理, 可读性和科学性较好, 研究结果具有一定的学术意义和参考价值。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成t_{1/2}或T_{1/2}¹, V_{max}不能写Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, V_d, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

大鼠早期生活应激对成年后功能性慢性内脏痛及下丘脑室旁核内CRH R1表达的影响

赵小平, 喻乐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅

■背景资料

功能性腹痛综合征患者通常有慢性内脏痛觉过敏。因确切的发病机制仍旧尚未阐明, 临床也因此缺乏有效的防治方法。近年来随着国内外功能性腹痛综合征动物模型的成功建立, 为进一步研究人类功能性腹痛综合征的产生、发展机制以及治疗提供了契机。

赵小平, 喻乐, 陈自洋, 张咏梅, 徐州医学院江苏省麻醉学重点实验室 江苏省徐州市 221004

花嵘, 中国人民解放军第九七医院急诊科 江苏省徐州市 221004

赵小平, 住院医师, 主要从事痛与镇痛的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81171041

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2011197

江苏省高校自然科学研究重大项目, No. 13KJA320001

江苏省2012年度普通高校研究生科研创新计划基金资助项目, No. XYYC-1214

作者贡献分布: 赵小平与喻乐对此文所作贡献均等; 张咏梅指导; 此课题由赵小平与张咏梅设计; 模型制备由赵小平与花嵘完成; 实验操作由赵小平、喻乐及陈自洋完成; 研究所用新试剂与分析工具由张咏梅提供; 数据分析由赵小平完成; 本论文写作由赵小平、喻乐及张咏梅完成。

通讯作者: 张咏梅, 教授, 221004, 江苏省徐州市铜山路206号, 徐州医学院江苏省麻醉学重点实验室, 徐州医学院麻醉生理学教研室, zhangym700@163.com

电话: 0516-83262683

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

Effect of early-life stress on chronic functional visceral pain and CRH R1 expression in the paraventricular nucleus in adult rats

Xiao-Ping Zhao, Le Yu, Zi-Yang Chen, Rong Hua, Yong-Mei Zhang

Xiao-Ping Zhao, Le Yu, Zi-Yang Chen, Yong-Mei Zhang, Xuzhou Medical College Jiangsu Provincial Key Laboratory of Anesthesiology, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China

Rong Hua, Department of Emergency Medicine, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81171041; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2011197; the Key Subject of Colleges and Universities Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 13KJA320001; the University Graduate Student Science and Technology Innovation Project of Jiangsu Province, No. XYYC-1214

Correspondence to: Yong-Mei Zhang, Professor, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou Medical College Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, 206 Tongshan Road, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China. zhangym700@163.com

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

Abstract

AIM: To assess the effect of early-life stress on chronic functional visceral pain and expression of corticotropin releasing hormone receptor 1 (CRH R1) in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of rats with chronic functional visceral pain to provide a theoretical basis for the prevention and treatment of abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders.

METHODS: Neonatal rats were randomly divided into six groups ($n = 10$), including a male control group, a female control group, a male separation group, a female separation group, a male distension group and a female distension group. HE staining was used to detect histologic changes in the colon tissue. Western blot and immunofluorescence were used to detect the changes in CRH R1 expression in the PVN. Brain tissue sections were immunostained for c-fos as a marker for activation of the PVN. Furthermore, normal male adult rats were randomly divided into three groups (normal control, saline and lidocaine, $n = 6$ for each group) to observe the role of PVN in the regulation of chronic functional visceral pain in normal rats by intra-PVN administration of lidocaine (1%, 0.3 μ L).

RESULTS: Neonatal maternal separation (NMS) or colorectal distension (CRD) resulted in chronic visceral hypersensitivity without pathological changes in the colon tissue. There was no gender difference in the above change. Electrical discharge of the abdominal external oblique muscle in rats 10, 20, and 30 min after intra-PVN microinjection of 1% lidocaine was decreased significantly under the stimulation of CRD at 60 mmHg compared with normal controls and saline rats. The expression of CRH R1 and c-fos in the PVN of NMS and CRD rats increased compared with control rats.

CONCLUSION: Early-life stress can lead to

chronic functional visceral pain in rats in adulthood. Allodynia caused by NMS is more obvious than that by CRD. The PVN and CRH R1 may be involved in the pathogenesis of chronic functional visceral pain caused by early-life stress.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Early-life stress; Functional chronic visceral pain; Neonatal maternal separation; Colorectal distension; Paraventricular nucleus; Corticotropin releasing hormone receptor 1

Zhao XP, Yu L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM. Effect of early-life stress on chronic functional visceral pain and CRH R1 expression in the paraventricular nucleus in adult rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3344-3355 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3344>

摘要

目的: 探讨建立功能性慢性内脏痛的不同造模方式及造成的功能性慢性内脏痛的性别差异; 观察功能性慢性内脏痛大鼠下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)内促肾上腺皮质激素释放激素受体1(corticotropin releasing hormone receptor 1, CRH R1)表达变化, 进而认识下丘脑PVN在功能性慢性内脏痛发生中的作用及机制, 为临床防治功能性慢性内脏痛提供理论依据。

方法: 将新生期SD大鼠随机分成雌雄对照组、雌雄母婴分离(neonatal maternal separation, NMS)组、雌雄结肠扩张(colorectal distension, CRD)组, 每组10只, 成年后进行结肠内扩张后, 采用腹壁撤离反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)和电生理学方法评价其内脏痛觉敏感性; 采用HE染色检测结肠组织形态学变化; 采用Western blot、免疫荧光染色方法检测PVN内CRH R1及c-fos的表达变化。将正常成年大鼠随机分为正常对照组、生理盐水组和利多卡因组, 每组6只, 通过PVN内微量注射利多卡因观察PVN在正常大鼠内脏痛觉调节中的作用。

结果: (1)大鼠新生期经历母婴分离、结肠扩张, 成年后AWR评分、腹外斜肌放电幅度增高, 痛阈值下降, 结肠组织均未见明显病理改变, 其中NMS组在20 mmHg结肠扩张时AWR评分和腹外斜肌放电幅度均比CRD组高($P<0.05$, $P<0.05$); (2)各组大鼠雌雄AWR评

分、痛阈值和腹外斜肌放电幅度差别不一致, 但大部分是没有性别差异的; (3)与正常对照组、生理盐水组相比, PVN内微量注射1%利多卡因后10、20、30 min在60 mmHg结肠扩张时腹外斜肌放电是明显下降的($P<0.05$)。 (4)NMS、CRD组与对照组比较, PVN内c-fos、CRH R1的表达增加($P<0.05$, $P<0.05$)。

结论: 早期生活应激会导致成年后功能性慢性内脏痛的发生, NMS导致的触诱发痛(allodynia)更明显, 但没有性别差异。PVN及其内的CRH R1参与大鼠早期生活应激引起的功能性慢性内脏痛的形成和维持。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 早期生活应激; 功能性慢性内脏痛; 雌雄母婴分离; 雌雄结肠扩张; 下丘脑室旁核; 促肾上腺皮质激素释放激素受体1

核心提示: 早期生活应激会导致成年后功能性慢性内脏痛的发生, 母婴分离导致的触诱发痛更明显, 但没有性别差异。下丘脑室旁核(paraventricular nucleus)及其内的促肾上腺皮质激素释放激素受体1(corticotropin releasing hormone receptor 1)参与大鼠早期生活应激引起的功能性慢性内脏痛的形成和维持。

赵小平, 喻乐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅. 大鼠早期生活应激对成年后功能性慢性内脏痛及下丘脑室旁核内CRH R1表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(31): 3344-3355 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3344>

0 引言

功能性腹痛综合征(functional abdominal pain syndrome, FAPS)也称为“慢性自发性腹痛”或“慢性功能性腹痛”, 主要表现为慢性内脏痛, 且伴随一定程度的日常活动能力减退, 症状至少持续6 mo, 但结肠组织未见明显病理学变化^[1]。目前内脏痛觉过敏被认为是FAPS的主要发病机制之一^[2,3], 但其确切的发病机制尚未阐明。随着脑显像技术的不断发展, 越来越多的研究发现各种慢性疼痛疾病(包括肠易激综合征)患者与应激-觉醒环路相关的脑区灰质密度增高^[4], 促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)-CRH R1信号系统是应激和觉醒环路中的一部分^[5]。前期临床资料显示, 应激有关的内脏痛觉过敏, 特别是在结肠水平, 主

■研究前沿

近年来, 早期生活应激经历对大鼠功能性慢性内脏痛的远期影响已经成为国内外研究的热点。Autumn等发现CRH R1的激活直接参与早期生活应激对海马突触可塑性和学习、记忆产生持久的影响; 中枢或皮下给以CRH R1拮抗剂能有效遏制早期生活应激对海马的不利影响。对于功能性慢性内脏痛是否伴随下丘脑室旁核内CRHR1的表达变化, 还未有相关报道。

■相关报道

研究发现各种慢性疼痛疾病患者与应激-觉醒环路的大脑灰质密度增高有关。CRH-CRH R1信号系统是应激和觉醒环路中的一部分。前期临床资料显示,急性和慢性应激有关的内脏痛觉过敏,特别是在结肠水平,主要是由脑内CRH-CRH R1信号系统激活导致的。

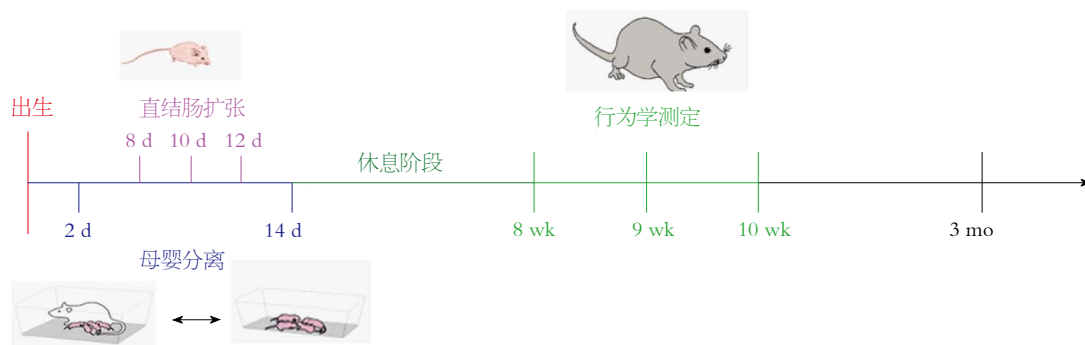


图1 大鼠功能性慢性内脏痛模型建立时间流程图。大鼠出生后第2天到第14天母婴分离或出生后第8、10、12天直肠扩张,出生后第8周到第10周行为学测定,出生后第3个月处死并取材。

要是由脑内CRH-CRH R1信号系统激活导致^[6-8]。CRH R1主要分布于中枢神经系统,如下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN),主要介导经典的CRH促进腺垂体促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)的释放作用,参与应激反应及应激相关行为、自主神经反应、内脏传出调节等^[6,9-15]。新生儿母婴分离(neonatal maternal separation, NMS)和新生儿直肠扩张(colorectal distension, CRD)是用于研究慢性内脏痛敏的两种常见动物模型。对于这两种模型造成内脏痛觉过敏的不同及是否有性别差异尚未见报道。本研究通过建立不同功能性慢性内脏痛模型探讨其造成内脏痛觉过敏的不同、是否有性别差异及观察功能性慢性内脏痛大鼠PVN内CRH R1表达变化,加深对早期生活应激致成年后功能性慢性内脏痛形成机制的认识,对临床采取积极有效的防治措施,减少早期不良生活经历所造成的危害具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年SD大鼠, 200-250 g, 雌雄各6只, 一雌一雄饲养在6个笼子里, 24℃±2℃室温, 12 h/12 h昼夜节律, 自由摄食饮水, 正常受孕, 其所生乳鼠作为实验对象。本实验均遵从国际疼痛研究联合会相关指南, 以尽量减少实验动物数目及对实验动物的伤害为原则, 并经徐州医学院实验动物伦理委员会的许可。人血管重建气囊20.0 mm×3.0 mm(美国); BL-420E+多道生理记录仪(成都泰盟仪器厂); 台式血压计(上海跃进医疗器械厂); 大鼠脑立体定位仪(日本); 微量进样器(上海); 苏木素伊红染色试剂盒(碧云天生物有限公司); 山羊源多克隆CRH R1抗体(美国Santa Cruz公司); 兔源多克隆c-fos抗体(美国Santa Cruz公司); 碱性磷酸酶标记抗山羊

IgG(碧云天生物有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠功能性慢性内脏痛模型的建立及实验分组: NMS模型参照文献[16,17], 自乳鼠出生后第2天至第14天, 每日上午9:00开始将乳鼠与母鼠分离3 h, 连续13 d。新生儿CRD模型参照文献[18,19], 在乳鼠出生后第8、10、12天, 每日9:00开始, 用棉签沾湿温水擦拭肛门后, 将人血管重建气囊插入乳鼠结直肠中, 以气囊完全进入肛门为准, 充气扩张维持1 min后放气撤出, 待30 min以后再重复一遍上述操作, 每次扩张完后立即将幼鼠送到母鼠身边。对照组不予任何处理。第21天断奶, 第30天雌雄分笼饲养。常规饲养到第8周即成年后, 进行内脏痛觉敏感性测定。第12周处死大鼠, 留取结肠进行病理学检查, 留取脑组织进行免疫荧光和免疫组织化学检测。具体时间流程如图1所示。

为研究不同性别、不同造模方式对大鼠功能性慢性内脏痛的影响, 将60只幼年SD大鼠随机分为6组($n = 10$): 雄性对照组(male control, MC)、雌性对照组(female control, FC)、雄性分离组(male separation, MS)、雌性分离组(female separation, FS)、雄性扩张组(male distension, MD)、雌性扩张组(female distension, FD); 为证明PVN在内脏痛觉感受中的作用将♂SD大鼠(200-250 g)随机分为3组($n = 6$): 正常对照组(control, C)、PVN内微量注射生理盐水组(nature saline, NS)、PVN内微量注射1%利多卡因组(lidocaine, LD)。

1.2.2 内脏痛觉敏感性测定: 参照文献[18,20], (1)AWR评分: 大鼠于实验前18 h禁食, 自由饮水, 乙醚麻醉大鼠, 将涂有石蜡油的气囊插入大鼠结直肠内4.0 cm, 用胶布将肛门外导管固定于大鼠尾根部, 导管经三通连接注射器和血压计。将

大鼠放入有机玻璃观察箱内(20 cm×12 cm×9 cm)观察,待大鼠苏醒并完全适应环境30 min后开始实验.分别给予20、40、60、80 mmHg压力,每次持续扩张20 s,刺激间隔4 min,每个压力均重复进行3次AWR评分. AWR评分采用单盲法,评分标准:0分:无明显行为变化;1分:仅有简单的头部运动;2分:腹部肌肉开始收缩,但未抬离桌面;3分:腹肌明显收缩变平或下腹壁抬离桌面;4分:腹壁拱起或伴身体、骨盆躬起;(2)痛阈测定:实验前准备同AWR评分.初始压力为10 mmHg,每次依次递增10 mmHg,保持10 s,间隔4 min后重复加压,直至大鼠达到AWR评分为3分时,即出现明显的腹肌收缩变平或明显的下腹壁抬离箱底时的压力值即为大鼠的痛阈值,注意扩张压力不超过80 mmHg.重复进行5次;(3)腹外斜肌放电记录:安静且室温24℃-26℃条件下,将大鼠用乙醚麻醉后固定于手术台上,气囊插入同AWR评分,将银丝电极插入腹外斜肌(腹股沟韧带上方1 cm,腹中线旁开1.5 cm),大鼠清醒后适应30 min,用BL-420E+生物信号采集处理系统记录其腹外斜肌基础放电(参数设置:高频滤波2 kHz,时间常数0.001 s,采样频率40 Hz,灵敏度500 μ V,走纸速度250 ms/div).然后给予压力分别为20、40、60、80 mmHg CRD刺激,每次加压持续10 s,间隔4 min,大鼠在不同压力下腹外斜肌放电幅值减去其基础放电幅值的差值代表不同压力下腹外斜肌放电幅值.通过与正常大鼠的腹外斜肌放电幅值的比较分析,筛选出造模成功的大鼠进行下一步实验.

1.2.3 结直肠组织病理学检查:第12周,经组织灌注固定后,取大鼠距肛门10 cm处降结肠作标本.切片由徐州医学院附属医院病理科专家诊断,观察指标为结直肠局部组织有无损伤及炎症等异常改变.

1.2.4 下丘脑PVN内微量注射及鉴定:成年SD大鼠腹腔注射10%水合氯醛3.5 mL/kg麻醉后,固定于脑立体定位仪上,沿正中线切开头皮,暴露前囟,根据Paxinos和Watson的大鼠脑立体定位图谱定位PVN(前囟后1.5 mm,右旁开0.4 mm,深7.8 mm),待大鼠清醒,将1%利多卡因或生理盐水0.3 μ L于1 min内注射到PVN内^[21,22].注射完毕后留针5 min防止返流并保证药物扩散.然后进行电生理记录给药后10、20、30 min时给予60 mmHg CRD刺激下大鼠的腹外斜肌放电峰峰值.处死大鼠,取脑,经中性红染色确定脑定位的准

确性.选择注射位点正确的大鼠,比较给药前后腹外斜肌放电峰峰值的变化,注射位点不在PVN内的实验数据不予统计处理.

1.2.5 Western blot检测PVN内CRH R1蛋白的表达:第12周迅速处死大鼠取脑,冰上分离PVN置于冻存管内,-80℃保存备用.经过样品处理,聚丙烯酰胺凝胶制备后上样与蛋白电泳,转膜,漂洗封闭,依次放入一抗、二抗,显色,照相,采用Image ProPlus图像分析系统对蛋白条带的相对深度进行分析.

1.2.6 免疫荧光(组织化学)染色法检测PVN内CRH R1和c-fos蛋白的表达:第12周大鼠经心脏组织灌注固定取脑,浸入30%蔗糖溶液中脱水直至沉底后脑组织冠状冰冻连续切片,0.01 mol/L的PBS漂洗;加入0.6%Triton X-100(或3% H_2O_2)30 min,封闭2 h,一、二抗孵育,贴片(或DAB溶液显色)、封片,共聚焦显微镜(或光学显微镜)下观察拍片、计数.

统计学处理 采用SPSS13.0统计学软件进行分析,实验数据以mean \pm SD表示,数据进行方差齐性检验,各组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用SNK检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠新生期NMS、CRD对成年后AWR评分的影响 在20 mmHg压力刺激下:MC组与FC组相比,未见明显差异;MS组与FS组相比,FS组AWR评分较高($P<0.05$);MD组与FD组相比,FD组AWR评分较低($P<0.05$).MS组、FS组与MC组、FC组比较,MS组、FS组AWR评分较高($P<0.05$, $P<0.05$);MD组、FD组与MC组、FC组比较,MD组、FD组AWR评分较高($P<0.05$, $P<0.05$).MD组与MS组相比,MD组AWR评分较低($P<0.05$);FD组与FS组相比,FD组AWR评分较低($P<0.05$).

在40、60 mmHg压力刺激下:MC组与FC组相比,MS组与FS组相比,MD组与FD组相比,均未见明显差异. MS组、FS组与MC组、FC组比较,MS组、FS组AWR评分较高($P<0.05$, $P<0.05$);MD组、FD组与MC组、FC组比较,MD组、FD组AWR评分较高($P<0.05$, $P<0.05$). MD组与MS组相比,FD组与FS组相比,均未见明显差异.

在80 mmHg压力刺激下:MC组与FC组相比,MS组与FS组相比,MD组与FD组相比,均未见明显差异. MS组、FS组与MC组、FC组比较,FD

■创新盘点

新生期NMS和CRD都是比较理想的功能性慢性内脏痛模型.NMS模拟的是心理应激,而CRD主要模拟的是躯体应激.这两个模型的应用有助于我们从脑-肠互动的角度进一步探讨功能性慢性内脏痛的病理生理机制,以及为改善和治愈腹痛相关的功能性胃肠疾病提供有价值的新途径.

■应用要点

本研究对认识早期生活经历对发育期幼鼠远期功能性慢性内脏痛的病理生理机制, 进而进一步认识下丘脑室旁核在功能性慢性内脏痛发生中的作用及机制, 对临床采取积极有效的防治措施, 减少早期不良生活经历所造成的危害具有重要的意义。

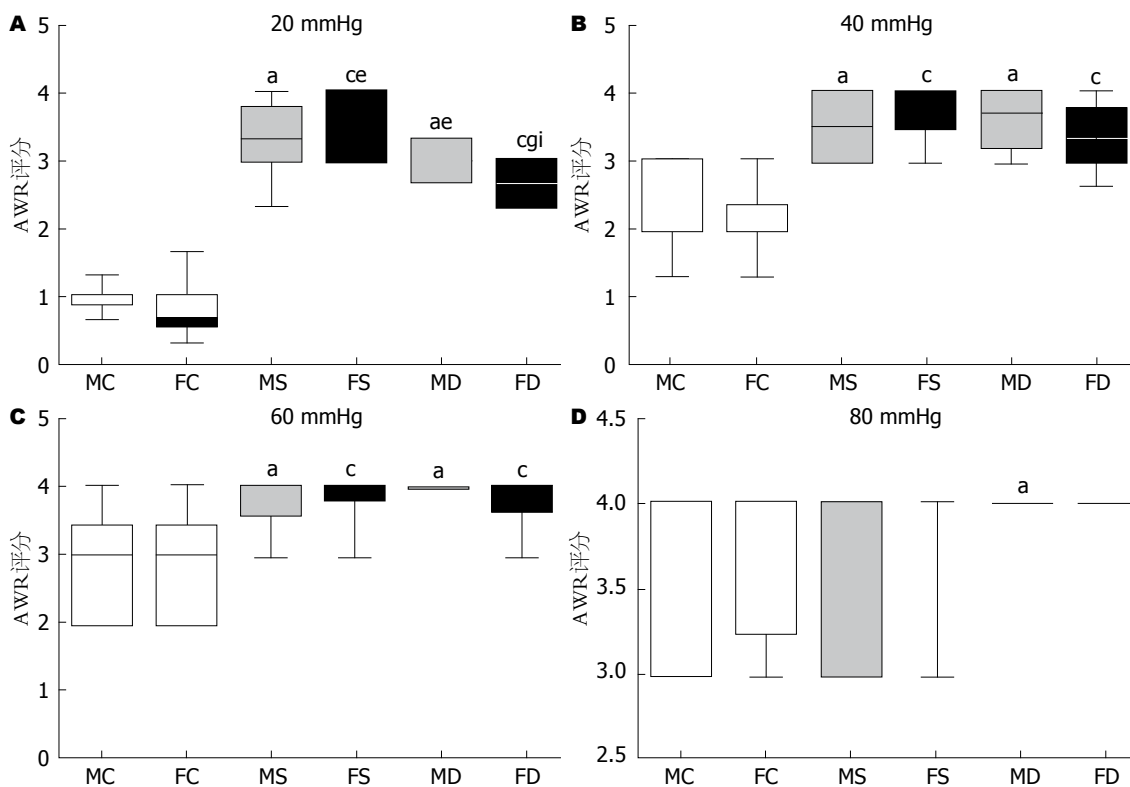


图2 大鼠早期母婴分离或直肠扩张对成年后AWR评分的影响。A: 各组大鼠在20 mmHg直肠扩张压力刺激下AWR评分; B: 各组大鼠在40 mmHg直肠扩张压力刺激下AWR评分; C: 各组大鼠在60 mmHg直肠扩张压力刺激下AWR评分; D: 各组大鼠在80 mmHg直肠扩张压力刺激下AWR评分。该箱图中箱体代表四分位距, 中间黑线代表中位数, 上下短线代表5%到95%的可信区间。* $P < 0.05$ vs 雄性对照组; † $P < 0.05$ vs 雌性对照组; ‡ $P < 0.05$ vs 雄性母婴分离组; § $P < 0.05$ vs 雌性母婴分离组; ¶ $P < 0.05$ vs 雄性直肠扩张组。MC: 雄性对照组; FC: 雌性对照组; MS: 雄性分离组; FS: 雌性分离组; MD: 雄性扩张组; FD: 雌性扩张组。

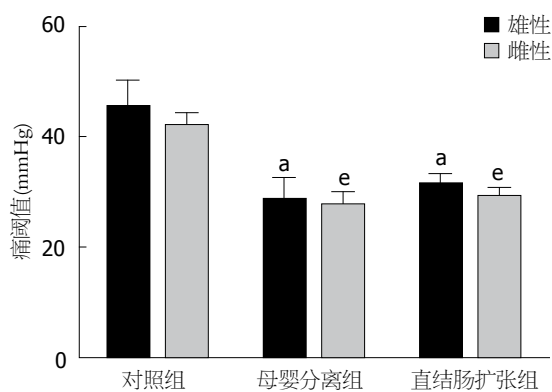


图3 大鼠早期母婴分离或直肠扩张对成年后痛阈值的影响。各组大鼠成年后痛阈值的比较。* $P < 0.05$ vs 雄性对照组; † $P < 0.05$ vs 雄性母婴分离组。

组与FC组比较, 均未见明显差异; MD组与MC组比较, MD组AWR评分较高($P < 0.05$)。MD组与MS组相比, FD组与FS组相比, 均未见明显统计学差异(图2)。

2.2 大鼠新生期NMS、CRD对成年后痛阈值的影响 MC组与FC组相比, MS组与FS组相比, MD组与FD组相比, 均未见明显差异。MS组、

FS组与MC组、FC组相比, 痛阈值下降($P < 0.05$, $P < 0.05$); MD组、FD组与MC组、FC组相比, 痛阈值下降($P < 0.05$, $P < 0.05$)。MD组与MS组相比, FD组与FS组相比, 均未见明显差异(图3)。

2.3 大鼠新生期NMS、CRD对成年后腹外斜肌放电的影响 在20 mmHg压力刺激下: MC组与FC组相比, MS组与FS组相比, MD组与FD组相比, 均未见明显差异。MS组、FS组与MC组、FC组比较, MS组、FS组腹外斜肌放电增强($P < 0.05$, $P < 0.05$); MD组、FD组与MC组、FC组比较, MD组、FD组腹外斜肌放电增强($P < 0.05$, $P < 0.05$)。MD组与MS组相比, MD组腹外斜肌放电较弱($P < 0.05$); FD组与FS组相比, FD组腹外斜肌放电较弱($P < 0.05$)。

在40 mmHg压力刺激下: MC组与FC组相比, FC组腹外斜肌放电增强($P < 0.05$); MS组与FS组相比, MD组与FD组相比, 均未见明显差异。MS组、FS组与MC组、FC组比较, MS组、FS组斜肌放电增强($P < 0.05$, $P < 0.05$); MD组、FD组与MC组、FC组比较, MD组、FD组斜肌放电增强

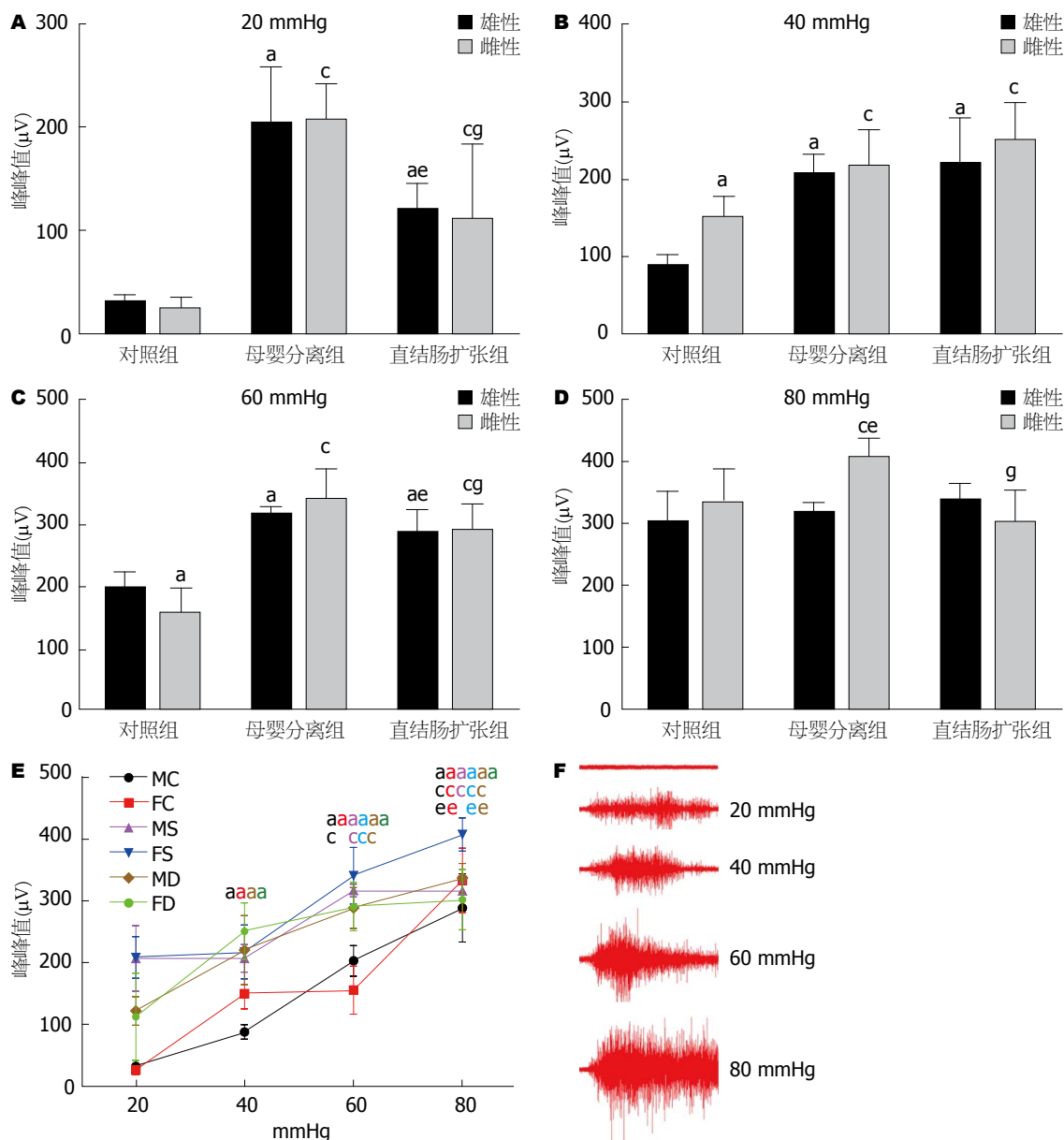


图 4 大鼠早期母婴分离或直肠扩张对成年后腹外斜肌放电幅度的影响. A: 各组大鼠在20 mmHg直肠扩张压力刺激下腹外斜肌放电幅度; B: 各组大鼠在40 mmHg直肠扩张压力刺激下腹外斜肌放电幅度; C: 各组大鼠在60 mmHg直肠扩张压力刺激下腹外斜肌放电幅度; D: 各组大鼠在80 mmHg直肠扩张压力刺激下腹外斜肌放电幅度; E: 随着刺激强度的逐渐增加各组大鼠腹外斜肌放电幅度变化; F: 雄性扩张组大鼠在不同的压力梯度(20、40、60、80 mmHg)直肠扩张刺激下腹外斜肌放电幅度情况. * $P<0.05$ vs 雄性对照组; * $P<0.05$ vs 雌性对照组; * $P<0.05$ vs 雄性母婴分离组; * $P<0.05$ vs 雌性母婴分离组. MC: 雄性对照组; FC: 雌性对照组; MS: 雄性分离组; FS: 雌性分离组; MD: 雄性扩张组; FD: 雌性扩张组.

($P<0.05$, $P<0.05$). MD组与MS组相比, FD组与FS组相比, 均未见明显差异.

在60 mmHg压力刺激下: MC组与FC组相比, FC组腹外斜肌放电较弱($P<0.05$); MS组与FS组相比, MD组与FD组相比, 均未见明显差异. MS组、FS组与MC组、FC组比较, MS组、FS组斜肌放电增强($P<0.05$, $P<0.05$); MD组、FD组与MC组、FC组比较, MD组、FD组斜肌放电增强($P<0.05$, $P<0.05$). MD组与MS组相比, 未见明显差异; FD组与FS组相比, FD组腹外斜肌放电较

弱($P<0.05$).

在80 mmHg压力刺激下: MS组与FS组相比, MS组腹外斜肌放电增强($P<0.05$); MC组与FC组相比, MD组与FD组相比, 均未见明显差异. FS组与FC组相比, FS组腹外斜肌放电增强($P<0.05$); MS组与MC组相比, MD组、FD组与FD组、FC组比较, 均未见明显差异. FD组与FS组相比, FD组腹外斜肌放电减弱($P<0.05$). MD组与MS组相比, 未见明显差异.

从20 mmHg到40 mmHg, 除MS组和FS组外,

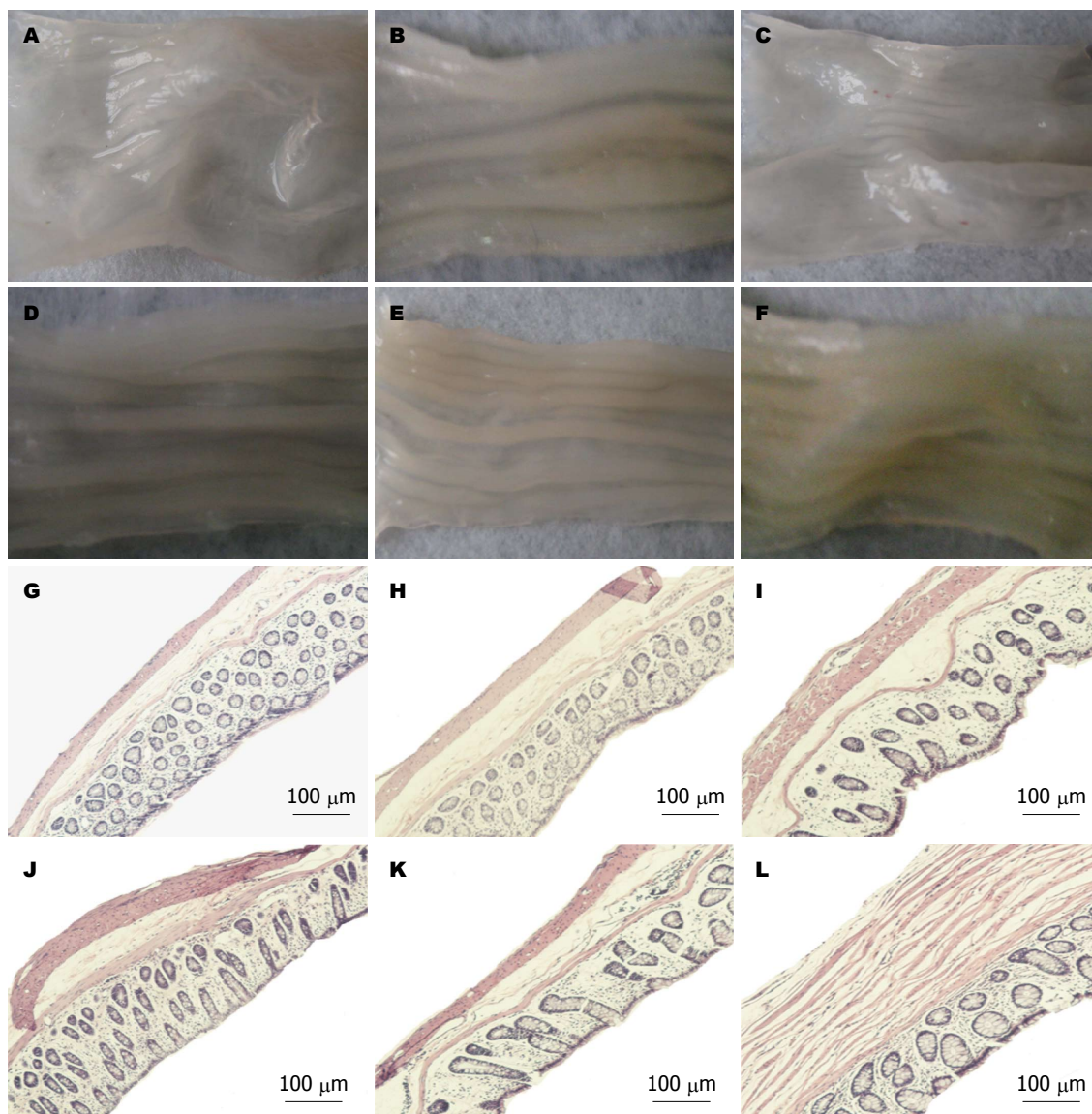


图5 大鼠早期母婴分离或直肠扩张成年后结肠组织大体和病理观. A-F: 各组大鼠成年后结肠组织大体观; G-L: 各组大鼠成年后结肠组织病理观. A, G: MC; B, H: FC; C, I: MS; D, J: FS; E, K: MD; F, L: FD. MC: 雄性对照组; FC: 雌性对照组; MS: 雄性分离组; FS: 雌性分离组; MD: 雄性扩张组; FD: 雌性扩张组.

其余各组的腹外斜肌放电增强($P<0.05$); 从40 mmHg到60 mmHg, 除FC组和FD组外, 其余各组的腹外斜肌放电都增强($P<0.05$); 其中FD组从40 mmHg到80 mmHg腹外斜肌放电没有变化; 从60 mmHg到80 mmHg, 除MS组和FD组外, 其余各组的腹外斜肌放电增强($P<0.05$)(图4).

2.4 大鼠新生期NMS、CRD成年后结肠组织病理学变化的影响 肉眼下: 各组大鼠解剖后发现腹腔解剖清晰, 肠道与周围组织没有黏连, 肠腔无明显扩张. 常规病理切片光镜下: 组织结构完整, 排列整齐, 黏膜表面光滑, 固有层内肠腺规则; 胞质呈嗜酸性红染, 胞核为圆形或椭圆形, 染成均匀的蓝黑色, 形态规则, 大小较为一致,

核仁清晰可见; 周围间质无明显水肿, 未见中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞浸润(图5).

2.5 正常大鼠PVN内微量注射利多卡因后对腹外斜肌放电的影响 PVN内微量注射生理盐水后第10、20、30分在60 mmHg直肠扩张刺激下, 腹外斜肌放电与给药之前相比均没有变化, 且与正常对照组比较没有差异; 而PVN内给以等容积利多卡因后第10、20、30分在60 mmHg直肠扩张刺激下, 腹外斜肌放电幅度与给药之前相比均下降($P<0.05$); 3个时间点的腹外斜肌放电幅度之间没有差异(图6).

2.6 大鼠新生期NMS、CRD对成年后PVN内CRH R1表达变化的影响 Western blot分析结果

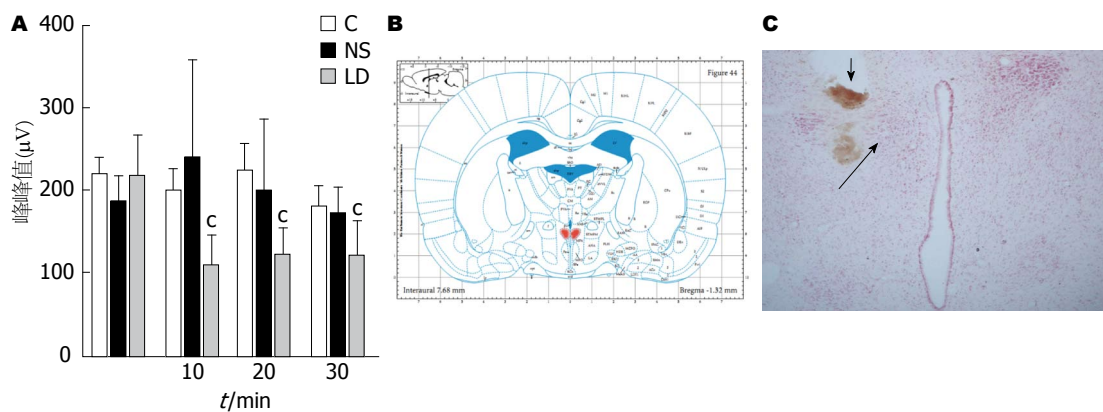


图6 大鼠下丘脑室旁核内微量注射利多卡因后腹外斜肌放电幅度变化. A: 各组大鼠PVN内微量注射利多卡因后10、20、30 min在60 mmHg直结肠扩张压力刺激下腹外斜肌放电幅度比较; B: 根据Paxinos和Watson的大鼠脑立体图谱定位PVN; C: 中性红染色定位PVN. C: 对照组; NS: 生理盐水组; LD: 利多卡因组. $P < 0.05$ vs 给药前. PVN: 下丘脑室旁核.

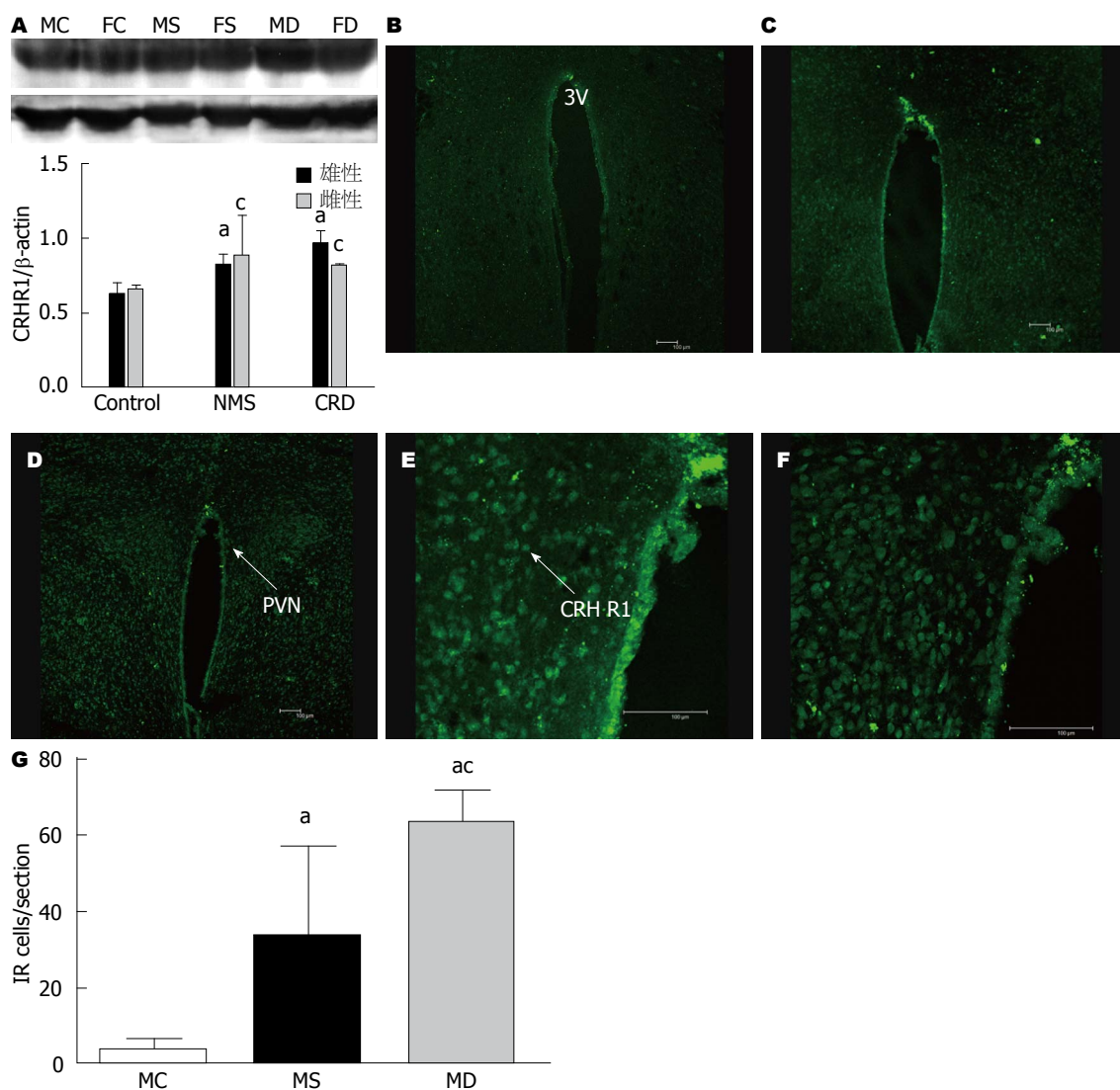


图7 大鼠早期母婴分离或直结肠扩张成年后下丘脑室旁核内CRH R1蛋白表达变化. A: 免疫印迹分析各组大鼠PVN内CRH R1的蛋白表达, 上面条带为CRH R1, 下面条带为β-actin. $P < 0.05$ vs 雄性对照组; $P < 0.05$ vs 雌性对照组. B-G: 免疫荧光分析雄性各组大鼠PVN内CRH R1的蛋白表达; B: MC; C, E: MS; D, F: MD. $P < 0.05$ vs 雄性对照组; $P < 0.05$ vs 雄性分离组. MC: 雄性对照组; FC: 雌性对照组; MS: 雄性分离组; FS: 雌性分离组; MD: 雄性扩张组; FD: 雌性扩张组. PVN: 下丘脑室旁核; CRH R1: 促肾上腺皮质激素释放激素受体1; NMS: 新生期母婴分离; CRD: 新生期直结肠扩张.

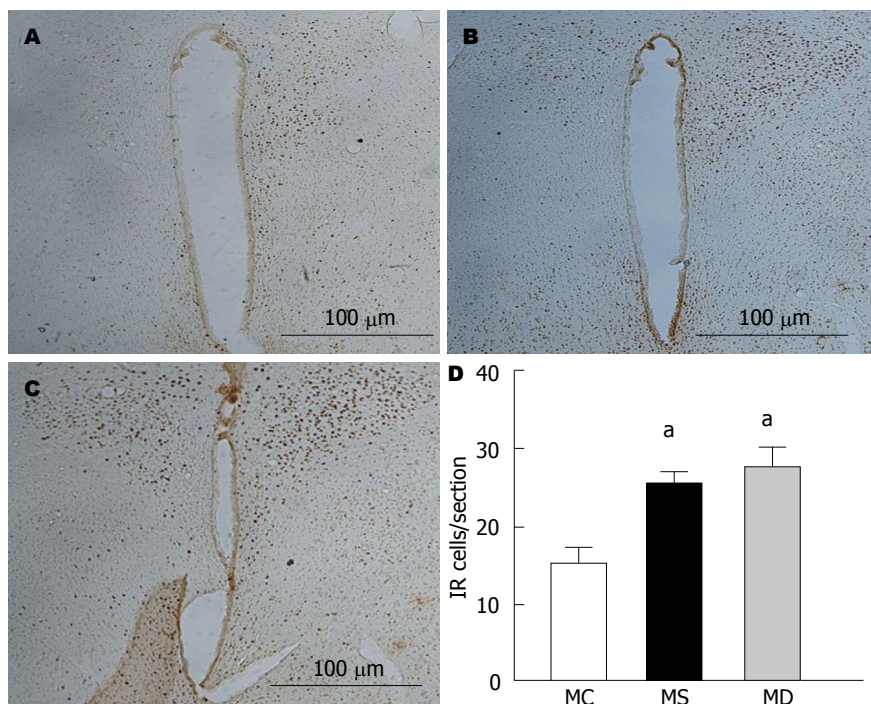


图8 大鼠早期母婴分离或直肠扩张成年后下丘脑室旁核内c-fos表达变化。A: MC; B: MS; C: MD。D: 雄性各组大鼠PVN内c-fos蛋白表达。^a $P < 0.05$ vs 雄性对照组。MC: 雄性对照组; MS: 雄性分离组; MD: 雄性扩张组。

显示: MC组与FC组相比, MS组与FS组相比, MD组与FD组相比, 其PVN内CRH R1的表达均未见差异。MS组、FS组与MC组、FC组比较, MS组、FS组其PVN内CRH R1的表达增加($P < 0.05$, $P < 0.05$); MD组、FD组与MC组、FC组比较, MD组、FD组其PVN内CRH R1的表达增加($P < 0.05$, $P < 0.05$)。MD组与MS组相比, FD组与FS组相比, 其PVN内CRH R1的表达均未见差异。

免疫荧光显示: MC组下丘脑室旁核内有少量免疫阳性细胞, MS组和MD下丘脑室旁核内免疫阳性细胞明显增多。经统计发现: MS组与MC组相比, MS组PVN内CRH R1的表达增加($P < 0.05$); MD组与MC组相比, MD组PVN内CRH R1的表达增加($P < 0.05$)。MD组与MS组相比, MD组PVN内CRH R1的表达增加($P < 0.05$)(图7)。

2.7 大鼠新生期NMS、CRD对成年后PVN内c-fos表达变化的影响 免疫组织化学结果显示: MC组下丘脑室旁核内有少量阳性细胞, 且着色较浅; MS组和MD组下丘脑室旁核内均出现较多深棕色免疫阳性产物, 免疫阳性细胞数目明显增多。统计后发现, MS组与MC组相比, MS组PVN内c-fos的表达增加($P < 0.05$); MD组与MC组相比, MD组PVN内c-fos的表达增加($P < 0.05$)。MD组与MS组相比, PVN内c-fos的表达没有差异(图8)。

3 讨论

大脑在新生期处于快速发育阶段, 容易受到自身或外界环境影响发生永久的结构、功能性变化, 出生后环境对中枢神经系统发育的影响是必然的。实验研究^[23]表明长时间(3 h或以上)NMS可能影响动物的神经系统正常发育产生永久的损害, 而短时间(15 min)NMS则会产生长久的抗抑郁能力, 提高认知功能。但是对此是有争议的。大鼠出生后第2-14天, 每天NMS 3 h, 成年后发现: 与正常对照组相比, NMS组痛阈值降低, AWR评分和腹外斜肌放电增强。且随着压力刺激强度逐步升级, AWR评分和腹外斜肌放电幅度越来越高。另外发现, 新生期NMS和CRD后成年大鼠除了在20 mmHg压力刺激下, NMS组AWR评分和腹外斜肌放电幅度比CRD组高之外, 痛阈值、AWR评分和腹外斜肌放电没有太大差异。最后, 所有成年大鼠结肠都未见明显病理变化。综合以上分析, 说明新生期NMS和CRD这两种模型都可以作为比较理想稳定的功能性慢性内脏痛模型。在20 mmHg的结肠压力刺激下, NMS组比CRD组AWR评分和腹外斜肌放电增高的更显著, 说明NMS组比CRD组触诱发痛更明显。有研究报道, 机体对心理应激和躯体应激的应答有所不同, 心理应激会导致结肠更多的推进性收缩, 移除心理应激后结肠仍然保持

较高的运动状态, 而躯体应激移除后结肠动力恢复到基线水平^[24]. NMS模拟的仅仅是心理应激, 而CRD主要模拟的还是躯体应激, 因此会稍有差异. 应用这两个模型有助于我们从脑-肠互动的角度进一步探讨功能性慢性内脏痛的病理生理机制, 以及为改善和治愈腹痛相关的功能性胃肠疾病提供有价值的新途径.

研究报道, IBS患者中以女性居多^[25,26]. 陈瑜等^[27]的研究发现肠易激综合征模型大鼠中, 雌鼠内脏痛觉感受比雄鼠更敏感. 但免疫共沉淀的研究结果显示非应激状态下雌性大鼠皮层CRH R增多, 但是若曾经有应激接触则这种性别差异会消失, 因为雄性会选择性增加CRH R表达^[16]. 我们的研究发现, 在非伤害刺激20 mmHg压力刺激下, NMS组雌性较雄性AWR评分高而CRD组雌性较雄性低. EMG结果显示, 在伤害性刺激(40、60、80 mmHg)刺激下腹外斜肌放电存在性别差异, 其中在40 mmHg压力下, 正常组雌性较雄性放电增加; 在60 mmHg压力下, 正常组雄性较雌性放电增加; 在80 mmHg压力下, CRD组雄性较雌性放电增加. 其他的行为学和肌电生理结果显示, 雌雄之间没有差异. 因为AWR评分是在清醒状态下直观测量的, 而EMG是在浅麻醉状态下客观记录的; NMS模拟的是一种心理应激, 而CRD更多的是起着躯体应激的作用. 因此在非伤害性刺激下, 清醒大鼠NMS模型中雌性较雄性内脏痛觉敏感, 清醒大鼠CRD模型中则雄性较雌性内脏痛觉敏感; 在浅麻醉状态下, 伤害性刺激会导致正常雌性大鼠较雄性大鼠内脏痛觉感受更强. 综合以上分析, 我们的研究表明正常大鼠内脏痛觉敏感性无显著的性别差异; NMS和CRD大鼠成年后内脏痛觉敏感性没有性别差异.

室旁核位于下丘脑前区, 是参与机体神经内分泌调节的重要核团, 并对内脏活动的调节发挥重要的调控作用. PVN内微量注射生理盐水后第10、20、30 min在60 mmHg结直肠扩张刺激下的腹外斜肌放电幅度与给药之前相比较没有变化, 且与正常对照组比较没有差异, 而PVN内微量注射等量利多卡因后第10、20、30 min在60 mmHg CRD刺激下的腹外斜肌放电峰峰值与给药之前相比较却均是明显下降的, 但3个时间点的腹外斜肌放电幅度没有变化. 该说明室旁核是调节正常大鼠内脏痛觉敏感性的一个重要部位, 可能参与早期不良生活经历导致功能

性慢性内脏痛的发生. CRH R的表达在发育过程中受各种生理或病理条件改变而变化^[28,29]. 生理条件下从青春期到成年期, 雄性HPA轴的调节逐渐以CRH R2为主, 而雌性以CRH R1为主^[30]. 有研究报道^[31], 新生鼠腹腔内注射脂多糖后, 最终导致大鼠到出生后第14天HPA轴功能低下, 海马CA1及CA3区CRH R1 mRNA减少. Ivy等^[32]发现CRH R1的激活直接参与早期生活应激对海马突触可塑性和学习, 记忆产生持久的影响, 中枢或皮下给以CRH R1拮抗剂能有效遏制早期生活应激对海马的不利影响. 原癌基因*c-Fos*是一种即刻早期基因, 可被多种刺激所诱导, 他的表达产物*c-fos*作为神经细胞反应性的标志物之一, 可以作为评价神经元接受刺激后是否存在活动异常的指标. 我们的结果显示不论雌雄, 与正常对照组相比, NMS组和CRD组其PVN内CRH R1及*c-fos*的表达都是增加的, 而NMS组和CRD组其PVN内CRH R1的表达是没有差异的. 说明新生期经历NMS或CRD都会导致后期出现室旁核内CRH R1及*c-fos*的表达增多, 可能与成年后功能性慢性内脏痛的形成有着密切的关系.

总之, 正常大鼠、新生期经历NMS或CRD大鼠成年后内脏痛觉敏感性没有显著的性别差异, 但新生期经历NMS或CRD都会造成内脏痛觉高敏, 且造成内脏痛觉高敏的程度差别不大. 只是新生期NMS导致大鼠内脏触诱发痛更显著一些. 下丘脑室旁核参与大鼠内脏痛觉敏感性的调节. 新生期经历NMS或CRD所导致室旁核内CRH R1及*c-fos*的表达增多, 可能与后期功能性慢性内脏痛的形成有着密切的关系. 本研究对进一步认识早期生活经历对发育期幼鼠远期功能性慢性内脏痛的病理生理机制, 对临床采取积极有效的防治措施, 减少早期不良生活经历所造成的危害具有非常重要的意义.

4 参考文献

- 1 Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999; 45 Suppl 2: II43-II47 [PMID: 10457044 DOI: 10.1136/gut.45.2008.ii43]
- 2 Delvaux M. Role of visceral sensitivity in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i67-i71 [PMID: 12077070 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i67]
- 3 Duarte MA, Goulart EM, Penna FJ. Pressure pain threshold in children with recurrent abdominal pain. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 280-285 [PMID: 10997373 DOI: 10.1097/00005176-200009000-00015]

- 4 Seminowicz DA, Labus JS, Bueller JA, Tillisch K, Naliboff BD, Bushnell MC, Mayer EA. Regional gray matter density changes in brains of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2010; 139: 48-57.e2 [PMID: 20347816 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.049]
- 5 Mayer EA, Aziz Q, Coen S, Kern M, Labus JS, Lane R, Kuo B, Naliboff B, Tracey I. Brain imaging approaches to the study of functional GI disorders: a Rome working team report. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 579-596 [PMID: 19646070 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01304.x]
- 6 Stengel A, Taché Y. Neuroendocrine control of the gut during stress: corticotropin-releasing factor signaling pathways in the spotlight. *Annu Rev Physiol* 2009; 71: 219-239 [PMID: 18928406 DOI: 10.1146/annurev.physiol.010908.163221]
- 7 Taché Y, Bonaz B. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J Clin Invest* 2007; 117: 33-40 [PMID: 17200704 DOI: 10.1172/JCI30085]
- 8 Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, Chapman K, Cottrell G, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Barbara G, Beck P, Bunnett NW, Sharkey KA, Ferraz JG, Shaffer E, Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 636-647 [PMID: 17304351 DOI: 10.1172/JCI29255]
- 9 Binder EB, Nemeroff CB. The CRF system, stress, depression and anxiety-insights from human genetic studies. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 574-588 [PMID: 20010888 DOI: 10.1038/mp.2009.141]
- 10 Taché Y, Kiank C, Stengel A. A role for corticotropin-releasing factor in functional gastrointestinal disorders. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 270-277 [PMID: 19615302 DOI: 10.1007/s11894-009-0040-4]
- 11 Ji G, Neugebauer V. Pro- and anti-nociceptive effects of corticotropin-releasing factor (CRF) in central amygdala neurons are mediated through different receptors. *J Neurophysiol* 2008; 99: 1201-1212 [PMID: 18171711 DOI: 10.1152/jn.01148.2007]
- 12 Greenwood-Van Meerveld B, Johnson AC, Cochran S, Schulkin J, Myers DA. Corticotropin-releasing factor 1 receptor-mediated mechanisms inhibit colonic hypersensitivity in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 415-422 [PMID: 15916629 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00648.x]
- 13 Hauger RL, Grigoriadis DE, Dallman MF, Plotsky PM, Vale WW, Dautzenberg FM. International Union of Pharmacology. XXXVI. Current status of the nomenclature for receptors for corticotropin-releasing factor and their ligands. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 21-26 [PMID: 12615952 DOI: 10.1124/pr.55.1.3]
- 14 Fukudo S. Role of corticotropin-releasing hormone in irritable bowel syndrome and intestinal inflammation. *J Gastroenterol* 2007; 42 Suppl 17: 48-51 [PMID: 17238026 DOI: 10.1007/s00535-006-1942-7]
- 15 Saito K, Kasai T, Nagura Y, Ito H, Kanazawa M, Fukudo S. Corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist blocks brain-gut activation induced by colonic distention in rats. *Gastroenterology* 2005; 129: 1533-1543 [PMID: 16285953 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.07.053]
- 16 Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-G856 [PMID: 17110521 DOI: 10.1152/ajpgi.00400.2006]
- 17 Kalinichev M, Easterling KW, Holtzman SG. Early neonatal experience of Long-Evans rats results in long-lasting changes in morphine tolerance and dependence. *Psychopharmacology* (Berl) 2001; 157: 305-312 [PMID: 11605087 DOI: 10.1007/s002130100806]
- 18 Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285 [PMID: 11054385 DOI: 10.1053/gast.2000.19576]
- 19 Lin C, Al-Chaer ED. Long-term sensitization of primary afferents in adult rats exposed to neonatal colon pain. *Brain Res* 2003; 971: 73-82 [PMID: 12691839 DOI: 10.1016/s0006-8993(03)02358-8]
- 20 Bian ZX, Zhang M, Han QB, Xu HX, Sung JJ. Analgesic effects of JCM-16021 on neonatal maternal separation-induced visceral pain in rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 837-845 [PMID: 20143462]
- 21 Sandkühler J, Maisch B, Zimmermann M. The use of local anaesthetic microinjections to identify central pathways: a quantitative evaluation of the time course and extent of the neuronal block. *Exp Brain Res* 1987; 68: 168-178 [PMID: 3691692 DOI: 10.1007/BF00255242]
- 22 Zhong MK, Duan YC, Chen AD, Xu B, Gao XY, De W, Zhu GQ. Paraventricular nucleus is involved in the central pathway of cardiac sympathetic afferent reflex in rats. *Exp Physiol* 2008; 93: 746-753 [PMID: 18281391 DOI: 10.1113/expphysiol.2007.041632]
- 23 Korosi A, Shanabrough M, McClelland S, Liu ZW, Borok E, Gao XB, Horvath TL, Baram TZ. Early-life experience reduces excitation to stress-responsive hypothalamic neurons and reprograms the expression of corticotropin-releasing hormone. *J Neurosci* 2010; 30: 703-713 [PMID: 20071535 DOI: 10.1532/JNEUROSCI.4214-09.2010]
- 24 Barbara G, Wang B, Stanghellini V, de Giorgio R, Cremon C, Di Nardo G, Trevisani M, Campi B, Geppetti P, Tonini M, Bunnett NW, Grundy D, Corinaldesi R. Mast cell-dependent excitation of visceral-nociceptive sensory neurons in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 26-37 [PMID: 17241857 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.039]
- 25 Mayer EA, Berman S, Chang L, Naliboff BD. Sex-based differences in gastrointestinal pain. *Eur J Pain* 2004; 8: 451-463 [PMID: 15324776 DOI: 10.1016/j.ejpain.2004.01.006]
- 26 Toner BB, Akman D. Gender role and irritable bowel syndrome: literature review and hypothesis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 11-16 [PMID: 10638553 DOI: 10.1016/S0002-9270(99)00757-1]
- 27 陈瑜, 林春, 唐影. 雌激素对肠易激综合征模型小鼠内脏痛觉敏感性的影响. *中国疼痛医学杂志* 2009; 15: 35-38
- 28 Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology. *Endocr Rev* 2006; 27: 260-286 [PMID: 16484629 DOI: 10.1210/er.2005-0034]
- 29 Zmijewski MA, Slominski AT. Modulation of corticotropin releasing factor (CRF) signaling through receptor splicing in mouse pituitary cell line AtT-20--emerging role of soluble isoforms. *J Physiol*

- 30 *Pharmacol* 2009; 60 Suppl 4: 39-46 [PMID: 20083850]
Weathington JM, Cooke BM. Corticotropin-releasing factor receptor binding in the amygdala changes across puberty in a sex-specific manner. *Endocrinology* 2012; 153: 5701-5705 [PMID: 23117932 DOI: 10.1210/en.2012-1815]
- 31 Amath A, Foster JA, Sidor MM. Developmental alterations in CNS stress-related gene expression following postnatal immune activation. *Neuroscience* 2012; 220: 90-99 [PMID: 22732504]
- 32 Ivy AS, Rex CS, Chen Y, Dubé C, Maras PM, Grigoriadis DE, Gall CM, Lynch G, Baram TZ. Hippocampal dysfunction and cognitive impairments provoked by chronic early-life stress involve excessive activation of CRH receptors. *J Neurosci* 2010; 30: 13005-13015 [PMID: 20881118]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

nm23基因及其在食管癌预后监测中的研究进展

侯建章, 冯婧, 侯振江

■背景资料

食管癌是世界上最常见的10大恶性肿瘤之一, 其发生发展是多因素、多阶段的复杂过程, 涉及多基因的改变, 病死率较高. *nm23*基因具有抑制肿瘤淋巴转移的作用, 动态监测*nm23*及相关基因变化可预测食管癌有无淋巴结转移, 判断其预后.

侯建章, 侯振江, 沧州医学高等专科学校 河北省沧州市 061001

冯婧, 沧州市中心医院 河北省沧州市 061001

侯建章, 助教, 主要从事外科教学与临床研究.

作者贡献分布: 本综述由侯建章与冯婧完成; 侯振江审校.

通讯作者: 侯振江, 教授, 061001, 河北省沧州市迎宾南大道高教区, 沧州医学高等专科学校医学技术系.

houzhenjiang@sina.com

电话: 0317-5507809

收稿日期: 2013-08-11 修回日期: 2013-09-23

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

Relationship between the *nm23* gene and prognosis of esophageal carcinoma

Jian-Zhang Hou, Jing Feng, Zhen-Jiang Hou

Jian-Zhang Hou, Zhen-Jiang Hou, Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, Hebei Province, China

Jing Feng, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001, Hebei Province, China

Correspondence to: Zhen-Jiang Hou, Professor, Department of Medical Technology, Cangzhou Medical College, Yingbin South Road, Higher Education Town, Cangzhou 061001, Hebei Province, China. houzhenjiang@sina.com
Received: 2013-08-11 Revised: 2013-09-23
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

Abstract

The occurrence and development of esophageal cancer are the result of multiple gene interactions, and the *nm23* gene is involved in the regulation of tumor cell metastasis and can inhibit lymph node metastasis. The detection of the change in the *nm23* gene can help predict the presence of lymph node metastasis or not in esophageal carcinoma. Moreover, *nm23* is an important indicator for prognosis evaluation in esophageal carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *nm23*; Esophageal carcinoma; Progress

Hou JZ, Feng J, Hou ZJ. Relationship between the *nm23* gene and prognosis of esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3356-3362 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3356.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3356>

摘要

食管癌的发生、发展是多基因相互作用的结果, *nm23*(nonmetastasis23)基因参与肿瘤细胞转移的调节, 具有抑制肿瘤淋巴转移的作用, 检测*nm23*基因的变化, 可预测食管癌是否具有淋巴结转移, 也是监测其预后的重要指标.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *nm23*基因; 食管癌; 预后监测

核心提示: 食管癌的发生、发展是多基因相互作用的结果, *nm23*基因参与肿瘤细胞转移的调节, 具有抑制肿瘤淋巴转移的作用, 检测*nm23*基因及其与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、p53、Survivin和转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β)的变化, 可预测食管癌的TNM分期、淋巴结转移.

侯建章, 冯婧, 侯振江. *nm23*基因及其在食管癌预后监测中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3356-3362 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3356.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3356>

0 引言

食管癌是发生在食管上皮组织的恶性肿瘤, 是最常见的10大恶性肿瘤之一, 在常见肿瘤中居第8位, 2008年是全球第5大癌症死亡原因^[1]. 尽管食管癌外科诊疗的效果不断提高, 但患者的生存率并未明显改善, 多数患者经过食管切除术后仍死于肿瘤术后转移和复发^[2], 每年全世界约有34万人死于食管癌. 我国是食管癌的高发区, 其发病率约占全世界总人数的70%^[3], 居我国恶性肿瘤死亡的第4位, 排在胃癌、肝癌、肺癌之后, 严重威胁着人们的健康. 食管癌主要有两种类型, 食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌, 其中ESCC是食管癌的主要类型, 在世界范围患者中占95%. 食管癌的发生发展涉及多因素、多阶段、多基因变异积累及相互作用的复杂过程^[4,5],

■同行评议者

张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科; 张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

从分子水平上涉及众多原癌基因、抑癌基因及蛋白质的改变. *nm23*抑癌基因对肿瘤的早期诊断、治疗、预防和预后监测等具有重要的意义, 本文就*nm23*基因及其在食管癌预后中的研究进展进行综述.

1 *nm23*基因的生物特性

*nm23*基因是1988年由Steeg等^[6]首先从小鼠黑色素瘤K-1735细胞株中分离出来的能抑制肺癌转移的相关基因, 是目前最引人注目的肿瘤转移抑制基因. 现已发现*nm23*家族有9个成员, 分别为*nm23-H1-9*, 根据发生系统和线性系列可分为2组^[7], 第1组包括*nm23-H1-4*基因, 其DNA序列有高度的同源性, 编码蛋白产物具有核苷二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDPK)活性; 第2组由*nm23-H5-9*基因组成, 序列保守性不如第一组严格, 有的还具有NDPK以外的独立功能结构域. 目前研究最多的是*nm23-H1*和*nm23-H2*基因, 是肿瘤转移抑制功能的主要执行者, 其编码蛋白与NDPK的A、B亚基相对应, 与NDPK的同源性分别为89%和97%, 二者的同源性为88%. *nm23-H1*基因与癌细胞的侵袭转移最密切, *nm23-H2*可精密地调节细胞与细胞外基质的黏附和迁移^[8], *nm23-H3*与细胞分化相关联, *nm23-H4-9*分别与线粒体间能量传递、精子早期发生、抑制细胞生长、诱导多核细胞产生、微管NDPK系统调节、精子发生发育及微管连接活动有关.

*nm23*蛋白通过使微管蛋白上的GTP转化为GDP导致肿瘤细胞微管系统解聚, 影响细胞分裂过程中纺锤体的形成, 抑制肿瘤细胞的移动, 阻断G蛋白介导的信号传递, 抑制细胞生长, 达到调节肿瘤发生和转移的目的. Otsuki等^[9]发现, *nm23*可通过影响微管微丝等细胞骨架的活动, 减少肿瘤细胞发生转移的机会. 将*nm23* cDNA导入乳腺癌细胞, 发现乳腺癌的转移潜能显著下降, 证实*nm23*基因具有肿瘤转移抑制能力. *nm23*还通过与NDPK相似的途径, 在调节细胞信号的传递、细胞分化等过程中发挥作用^[10], 与肿瘤转移抑制、细胞分化、凋亡、增殖及DNA突变有关, 通过下调G蛋白偶联受体2水平抑制肿瘤转移. Cheng等^[11]发现, *nm23-H1*可通过抑制蛋白水解酶-白明胶酶A的转录而阻碍细胞外基质及基膜的降解, 增加细胞间黏附性, 从而抑制肿瘤细胞的运动转移. Ma等^[12]认为, *nm23-H1*凭借其化学能量, 逐步水解DNA3'末端单核苷酸

的3'-5'核酸外切酶活性, 后者在DNA修复中发挥重要作用, 这与*nm23-H1*的抗转移和致癌活动相关. Marino等^[13]确定了肌动蛋白切割蛋白凝溶胶蛋白与*nm23-H1*结合, 并验证了他们之间的相互作用. 发现肿瘤细胞的转移能力与凝溶胶蛋白的表达呈负相关, *nm23-H1*结合凝溶胶蛋白, 降低肌动蛋白解聚功能, 抑制细胞活力. 目前研究^[14]表明, *nm23-H7*可能与微管NDPK系统的调节有关, 从而影响微管的滑动. *nm23-H9*是一种融合蛋白, 与微管的连接活动密切相关. 现已明确, *nm23*基因在胃癌、肝癌、胆囊癌和结直肠癌等肿瘤中的高表达能有效抑制肿瘤转移, 提高患者预后^[15].

2 *nm23*基因在食管癌中的表达及与预后的关系

多数恶性肿瘤中, *nm23*低水平表达者易发生转移. 诸多研究^[16-18]均显示, 多种恶性肿瘤中*nm23*蛋白表达量降低与肿瘤转移潜能的相关性. 李秀娟等^[19]报道, 食管癌组织中*nm23*的阳性率明显低于正常黏膜组织, 在高中分化食管癌组的阳性率(78.6%)明显高于低分化组(50.0%), 无淋巴结转移组的阳性率(82.9%)明显高于有淋巴结转移组(57.6%), 与食管癌的分化程度、淋巴结转移明显相关, 而与年龄、性别及浸润深度无关. 提示*nm23*蛋白表达下降与食管癌的发生密切相关, 表达程度越低预后越差, 与Sirotkovic等^[16,18]多数恶性肿瘤*nm23*蛋白表达降低与转移潜能有关的报道一致. 刘华等^[20]报道, *nm23*蛋白高表达与淋巴结转移有关, 无淋巴结转移者*nm23*蛋白表达率(83.6%)显著高于有淋巴结转移者(42.9%). 尽管*nm23*蛋白的低表达与ESCC的分化程度、浸润深度、病理分期无明显相关, 但*nm23*蛋白低表达在高、中、低分化ESCC的阳性率呈下降趋势, 证实*nm23*基因具有抑制肿瘤转移的作用, 与Szumilo等^[21]研究结果一致. 鲍正齐等^[22]报道, 90例食管癌组织中*nm23*蛋白的阳性率(52.2%)显著低于正常食管黏膜组织(82.1%), 与淋巴结转移和临床分期呈负相关, 无淋巴结转移组*nm23*的阳性率显著高于有淋巴结转移组, 随临床分期的增加, *nm23*阳性率明显下降, IIa、IIb和III-IV期*nm23*阳性率分别为72.4%、47.5%和33.3%, 而与分化程度及浸润深度无关. 周保平等^[23]发现, I-II期、III-IV期食管癌中*nm23*的阳性率分别为60%、32.1%, 从I期-III期与食管癌的病理类型及组织学分级呈正相关, 无淋巴结转移组*nm23*蛋白的阳性率高于

■研究前沿

目前常采用检测*nm23*基因用于判断食管癌的预后. 应用询证医学, 寻找*p53*、*Survivin*等与*nm23*相关指标联合检测, 用于判断食管癌预后敏感性高、特异性强的指标势在必行. 动态监测血清*nm23*蛋白判断食管癌预后的价值有待于进一步证实.

■相关报道

李秀娟等报道nm23蛋白低表达与食管癌的发生和淋巴结转移密切相关, VEGF和nm23表达呈负相关, nm23低表达而p53高表达者预后不良。Survivin阳性和nm23-H1阴性表达者淋巴结转移的危险性更大, nm23-H1和TGF- β 1表达与食管癌的TNM分期、淋巴结转移呈正相关, 提示食管癌的发生发展涉及多因素、多阶段、多基因变异积累及相互作用的结果。

有淋巴结转移组, 即食管癌的TNM分期越晚, 癌组织中nm23蛋白表达越低, 与Wang等^[24]研究结果一致。说明nm23基因在食管癌转移过程中发挥负性调节作用, 动态监测其表达, 可判断食管癌有无淋巴结转移及预后。

3 nm23-H1基因在食管癌中的表达及与预后的关系

nm23-H1被认为是一种转移抑制基因, 其抑制肿瘤转移机制为增强微丝、微管的聚合, 影响细胞的移动, 抑制肿瘤的侵袭和转移^[25]。Liu等^[26]认为nm23-H1基因与食管癌发生的性别、年龄并没有显著的相关性, nm23-H1基因表达下调, 与淋巴结转移相关, 但与侵袭性无关。有资料^[27]表明, 食管癌组织中nm23-H1蛋白阳性率为54.1%, 与性别、年龄、肿瘤部位、大小、病理类型和浸润程度无关, 无淋巴结转移组nm23-H1的阳性率(61.5%)显著高于有淋巴结转移组(11.1%), 还与术后肿瘤转移、复发有关, nm23-H1阳性表达组术后生存期明显长于nm23-H1阴性表达组。食管癌伴肿瘤转移者nm23-H1蛋白的阳性率明显低于无转移者, 且高表达对食管癌转移有一定的抑制作用, 其低表达预示术后肿瘤转移和复发的可能性大, 生存期短, 预后差。魏华兵等^[28]报道80例ESCC组织中nm23-H1的阳性率为70%, 与食管癌的淋巴转移、TNM分期呈负相关, nm23-H1的低表达与局部淋巴结转移及TNM分期呈正相关, 而与肿瘤分化程度、浸润深度、是否有脉管癌栓无明显相关, 这与刘立刚等和任宏等^[29,30]报道nm23-H1阳性者预后明显好于阴性者, 低表达与淋巴结转移、分期呈正相关, 低表达者预后较差的结果一致。nm23-H1阳性表达者预后明显好于阴性表达者, 随访60-80 mo, nm23-H1阳性者的中位生存期37.0 mo \pm 2.6 mo及5年生存率(21.2%)明显大于阴性者(24 mo, 4.2%), 单因素回归分析发现, nm23-H1阴性表达为食管癌的危险因素, 多因素回归分析显示, 肿瘤的浸润深度、脉管癌栓、nm23-H1蛋白表达是ESCC的独立预后因素。任宏等^[31]报道, nm23-H1在ESCC组织、癌旁组织、正常组织的阳性率(分别为60.3%、80.0%、96.7%)有显著性差异, 与TNM分期、淋巴结转移相关, 但与患者的年龄、性别、浸润深度、肿瘤分化程度等均无明显关系; 淋巴结转移组nm23-H1阳性率(35.6%)显著低于无淋巴结转移组(93.9%), 提示食管癌组织nm23-H1蛋白低表达预示肿瘤的

转移, 与赵霖等报道, 食管癌组织中nm23-H1蛋白表达与淋巴结转移呈负相关的结果一致。研究显示, nm23-H1与分期、淋巴管血管侵犯、肿瘤复发有关, nm23-H1阳性者化疗后的生存期优于阴性者。犹东等^[32]发现, nm23-H1与食管癌的浸润深度、TNM分期相关, 浸润越深, nm23-H1的阳性表达率越低, 且有淋巴结转移组的阳性表达率明显低于无淋巴结转移组, 与术后3年生存者nm23-H1的阳性表达率有显著性差异, 说明nm23-H1是评价食管癌淋巴结转移和预后的有价值指标。另有研究表明, nm23-H1与分期无关, nm23-H1表达可作为食管癌, 尤其是有淋巴结转移者预后的指标, 表达越低预后越差。以上均显示nm23-H1与预后生存期有关。因此, nm23-H1基因参与抑制肿瘤细胞转移的调节, 具有抑制肿瘤淋巴结转移的作用, 定期检测nm23-H1蛋白可预测食管癌淋巴结转移及预后。陈艳等^[33]发现, nm23-H1低表达可促进食管癌细胞转移表型, 导致肿瘤浸润及淋巴结转移, 可作为食管癌转移复发的参考指标, 且nm23-H1阳性者化疗的敏感性明显优于nm23-H1阴性者, 根据nm23-H1表达指导个体化治疗的针对性, 从而提高有效性。

4 nm23与其他基因在食管癌中的表达及与预后的关系

4.1 nm23与VEGF在食管癌中的表达及与预后的关系 肿瘤血管的形成往往是肿瘤侵袭和转移的基础, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在促进血管内皮细胞增殖和增加血管通透性方面的作用恰是肿瘤新的血管生成所必需的。研究表明, VEGF高表达预示肿瘤的复发和转移^[34]。VEGF是作用最强、特异性最高的促血管生长因子之一, 通过旁分泌能高效、特异地作用于血管内皮细胞, 促进新生血管的形成, 其表达水平与肿瘤的侵袭性密切相关, 是许多恶性实体瘤的不良预后因子^[35]。鲍正齐等^[22]报道, 90例食管癌组织中VEGF的阳性率(83.3%)显著高于正常食管黏膜组织(21.4%), 而nm-23蛋白的阳性率(52.2%)显著低于正常食管黏膜组织(82.1%); VEGF和nm23的表达呈负相关, 与食管癌分化程度、浸润深度无关。VEGF在食管癌淋巴结转移组和分期为IIb和III-IV期组高表达, 而无淋巴结转移组和临床IIa期低表达; nm23的表达则与之相反, 两者在分化程度、浸润深度等相关指标中的表达无显著差异。

VEGF阳性伴nm23阴性表达者发生淋巴结转移的可能性大, VEGF和nm23的表达与食管癌的发生、发展、浸润、转移和预后密切相关, 可能在淋巴结转移中起拮抗作用, 联合检测可预测食管癌浸润转移并估计预后. Shimada等^[36]发现, 放化疗无反应者血清VEGF明显高于有反应者, 且血清VEGF高水平组的3年生存率显著低于低血清VEGF组.

4.2 nm23与Survivin在食管癌中的表达及与预后的关系 Survivin属凋亡家族成员, 又称生存素, 通常仅在胚胎和胸腺中有微弱表达, 但Survivin几乎在所有的人类癌组织中都有表达, 在肿瘤的发生发展、浸润和转移复发过程中起关键作用. Survivin的表达与肿瘤的发生、发展及预后密切相关, 是迄今发现最强的凋亡抑制因子^[37]. 正常细胞脱离原组织时, 即启动凋亡过程, 不会形成远隔部位的增殖. 癌细胞自原发部位脱落, 经定居、分裂、增殖, 最终形成癌转移. 可能由于Survivin对癌细胞凋亡的抑制而继续分裂, 造成肿瘤邻近和远隔部位转移灶的形成. 钱志英等^[38]认为, 外周血中Survivin mRNA表达强度与食管癌的发生、发展密切相关, 可作为判断食管癌发生、发展、转移等生物学行为的指标. 任宏等^[31]报道, Survivin在ESCC组织、癌旁组织和正常组织的阳性率呈明显下降趋势, 而nm23-H1的阳性率呈明显上升趋势, 二者与肿瘤分化程度、TNM分期、淋巴结转移相关. Survivin的阳性率与淋巴结转移呈正相关, nm23-H1的阳性率与淋巴结转移呈负相关, Survivin和nm23-H1二者呈低度负相关. Survivin阳性和nm23-H1阴性表达者发生淋巴结转移的危险性更大, 提示Survivin蛋白的抑制凋亡作用和nm23蛋白的抑制转移作用在ESCC的发生、发展过程中发挥重要作用, 他们以不同的方式参与ESCC的发生和发展, 具有一定的协同作用, 共同促进肿瘤的进展和转移. 联合检测Survivin和nm23-H1表达是判断食管癌有无淋巴结转移和预后的重要指标.

4.3 nm23与p53在食管癌中的表达及与预后的关系 p53基因为抑癌基因, 参与DNA损伤的修复, 其突变型具有促进正常细胞恶性转化的作用, 促进肿瘤的发生. 据报道约50%的食管癌有p53基因突变^[39]. Shimada等^[40]报道, 用血清p53抗体诊断ESCC特异性强、敏感性高. p53蛋白阳性表达不仅发生于食管癌变的早期阶段, 而且在食管癌发生、发展中起重要作用, 故p53检测可作

为早期诊断食管癌的一种分子生物学指标. 周保平等^[23]报道, 食管癌患者nm23和p53的阳性率分别为46.6%、58.6%, 与性别、年龄及肿瘤大小无相关性, III-IV期有淋巴结转移组nm23的阳性率显著低于无淋巴结转移组; p53的表达与食管癌的分化程度有关, 而与有无淋巴结转移的阳性率无显著性差异. I期-III期食管癌, p53蛋白阳性率越来越高, 阴性表达越来越低, 其过表达与食管癌的临床分期呈正相关, 恶性程度越高、浸润越深, p53蛋白表达越高, 预后越差, 提示p53异常表达在肿瘤细胞的增殖和发展中起重要作用. nm23蛋白低表达而p53蛋白高表达者预后不良. 同时检测p53和nm23基因对食管癌的临床分期、分化程度、预后评估具有一定价值.

4.4 nm23与基质金属蛋白酶在食管癌中的表达及与预后的关系 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)对多种细胞外基质均有降解作用, MMP-7是MMPs家族中的重要成员之一, 在肿瘤的浸润和转移中起重要作用. 王亚莉等^[41]报道, MMP-7在食管癌、癌旁不典型增生的表达率显著高于正常黏膜组织, 其阳性表达呈明显的异质性, 与组织分级、浸润深度及淋巴结转移有关. nm23-H1蛋白表达与ESCC的浸润深度及淋巴结转移密切相关, nm23-H1的低表达更具有侵袭力. nm23-H1与MMP-7在ESCC中呈负相关, 随ESCC分期的递增、浸润深度的增加, MMP-7的表达愈来愈强, 而nm23-H1的表达逐渐减弱. 联合检测nm23-H1、MMP-7可用于ESCC的早期发现, 并判断预后. Tanioka等和El-Kenamy等^[42,43]报道, 食管癌组织中MMP-9表达明显高于正常组织, 并在食管癌的侵袭和转移过程中发挥重要作用, 对判断预后也有重要意义. 武彤彤等^[44]发现, 食管癌组织中MMP-9的表达随肿瘤浸润深度的增加, 阳性表达增高. 苏乃伟等^[45]报道, 食管癌组织MMP-9的阳性表达率显著高于正常食管黏膜组织, 与组织学分级、浸润程度、淋巴结转移、TNM分期有关. 随分化程度的降低、浸润深度的增加、淋巴结转移、TNM分期升高, MMP-9表达增高; 随淋巴结转移及TNM分期升高, nm23表达降低, 与食管癌的浸润、转移密切相关. MMP-9与nm23的表达呈负相关, 在食管癌细胞分化、转移和临床进展中具有相互诱导或信息传递的负调节作用, nm23低表达可促进MMP-9高表达, 联合检测有助于判断食管癌的生物行为学和估计预后.

4.5 nm23与TGF- β 1在食管癌中的表达及

■创新盘点

nm23作为首先被发现的肿瘤转移抑制基因, 其作用具有组织特异性, 在肺癌、前列腺癌、膀胱癌、子宫内膜癌等的表达水平与肿瘤转移无关, 与肿瘤的分化、增生和进展有关. 而在食管癌、肝癌、卵巢癌等表达与肿瘤转移及预后不良呈负相关, 肿瘤转移与分化程度密切相关.

■应用要点

*nm23*基因表达与食管癌的淋巴结转移和预后密切相关,联合检测其他基因对监测食管癌的预后价值更大。如果进一步证实*nm23*基因在组织标本和血清中的表达具有一致性,动态监测血清*nm23*蛋白含量将为食管癌预后判断开辟新途径。

与预后的关系 有研究表明,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β , TGF- β 1)基因具有细胞转化、增殖、分化和促凋亡作用,参与多种肿瘤的发生和发展过程,其异常表达与肿瘤的发生发展、转移及预后有关。张明伟等^[46]报道, TGF- β 1表达水平与食管癌的TNM分期、淋巴结转移、细胞的分化程度及转移密切相关。*nm23*-H1在癌旁食管黏膜及正常食管黏膜均有表达,并明显高于食管癌组织,其表达水平与食管癌的淋巴结转移、癌细胞的分化程度及淋巴转移明显相关。李红等^[47]报道, *nm23*-H1和TGF- β 1表达水平与食管癌的TNM分期、淋巴结转移呈正相关,与肿瘤分化程度呈负相关,提示二者在食管癌的发生、发展和转移过程中起重要的调控作用,表达水平同时降低,预示食管癌的转移和预后不良。联合检测有助于食管癌术后TNM分期、转移的判断,是监测食管癌预后的有用指标。

4.6 *nm23*与Ki-67在食管癌中的表达及与预后的关系 细胞增殖相关抗原(Ki-67)是反映细胞增殖活性的理想指标,其表达水平能全面、可靠地反映细胞的增殖水平^[48],与恶性肿瘤的发生、转移、预后关系密切。刘华等^[20]报道, ESCC组织中Ki-67阳性率(56.0%)显著低于*nm23*阳性率(78.3%),其表达水平与食管癌淋巴结转移及病理分期有关,淋巴结转移组的阳性率(75.7%)显著高于无淋巴结转移组(24.3%), III、IV期食管癌组织中高表达者明显高于低表达者。食管癌组织中Ki-67蛋白低表达与*nm23*高表达明显相关,与刘剑等^[49]报道结果一致,认为Ki-67蛋白低表达与*nm23*高表达者淋巴结转移少、分化程度高、浸润深度浅、TNM分期早;而在Ki-67蛋白高表达与*nm23*低表达者中的结论相反,与ESCC浸润转移过程关系密切,联合检测Ki-67和*nm23*蛋白表达有助于判断食管癌的预后。

4.7 *nm23*与P-gp在食管癌中的表达及与预后的关系 药耐基因糖蛋白(p-glycoprotein, P-gp)是一种跨膜蛋白,能将细胞内疏水亲脂性药物主动转运到细胞外,使进入细胞内的药物浓度降低,从而使肿瘤细胞产生耐药性,降低化疗效果。孙瑞清等^[50]研究P-gp、*nm23*在ESCC中的表达及其对预后的影响,发现食管癌组织P-gp表达与肿瘤大小、分化程度无关,而与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及生存期有关,肿瘤耐药性越强,浸润越深,越易转移,预后越差;*nm23*表达与肿瘤的大小、分化程度、浸润深度无关,而与淋巴

结转移及生存期密切相关,且*nm23*阴性表达较阳性表达者更易发生转移。P-gp与*nm23*在ESCC中的表达无明显相关性,表明肿瘤有无耐药不影响肿瘤*nm23*蛋白的表达,与杨书云等^[51]报道结果相符,说明二者通过各自相应的途径发挥作用。因此,联合检测P-gp、*nm23*表达对判断ESCC预后和选择治疗方案有一定指导意义。

4.8 *nm23*与CerbB-2在食管癌中的表达及与预后的关系 *CerbB-2*是目前研究较多的癌基因之一,正常情况下处于非激活状态,当受到体内、外某些因素作用时被激活,其结构改变、扩增或过表达促进细胞有丝分裂、DNA合成增加,加快细胞增殖,导致细胞生长异常,从而转化为肿瘤细胞。研究表明^[52], *CerbB-2*在消化系统肿瘤中明显表达,其变化与肿瘤的发生、发展,淋巴结转移和预后密切相关。王丰梅等^[53]报道, *CerbB-2*作为食管癌一个独立的预后指标,无论有无淋巴结转移, *CerbB-2*高表达预后均差。10年以上生存组*nm23*-H1阳性表达率明显高于2年内死亡组,而淋巴结转移组的阳性表达率显著低于淋巴结未转移组,其表达水平与组织学分级无关。*nm23*-H1高表达或*CerbB-2*低表达者淋巴转移率低,术后生存率高,预后较好。*nm23*-H1与*CerbB-2*无相关性,说明二者在食管癌的发生发展中发挥各自的作用,无协同作用。

5 结论

*nm23*基因表达与食管癌的淋巴结转移和预后密切相关,联合检测VEGF、Ki-67、Survivin、p53对判断食管癌的预后价值更大,通过循证检验医学的方法,寻找*nm23*等2-3项敏感性高、特异性强的指标,用于食管癌的预后监测势在必行。王光锋等^[54]报道,血清*nm23*-H1含量与胃癌组织中的表达呈正相关,动态监测血清*nm23*-H1蛋白含量有望成为监测食管癌预后的有效指标,但也有*nm23*-H1基因在组织标本和血清中表达不完全一致的报道^[55]。因此,检测血清*nm23*蛋白含量用于食管癌的预后监测有待于进一步证实。

6 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 薛瑞, 刘迪填. 食管癌外周血微转移的研究进展. 医学综述 2009; 15: 1636-1639
- 3 王皓, 钟理, 王建飞, 张小刚. 肿瘤标志物在食管鳞癌中的研究与应用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1842-1848

- 4 Hu N, Wang C, Su H, Li WJ, Emmert-Buck MR, Li G, Roth MJ, Tang ZZ, Lu N, Giffen C, Albert PS, Taylor PR, Goldstein AM. High frequency of CDKN2A alterations in esophageal squamous cell carcinoma from a high-risk Chinese population. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 205-216 [PMID: 14732922 DOI: 10.1002/gcc.10315]
- 5 Shen ZY, Xu LY, Li EM, Cai WJ, Shen J, Chen MH, Cen S, Tsao SW, Zeng Y. The multistage process of carcinogenesis in human esophageal epithelial cells induced by human papillomavirus. *Oncol Rep* 2004; 11: 647-654 [PMID: 14767516]
- 6 苏乃伟, 冯旭, 草家锦. VEGF及nm23在广西地区食管癌中的表达及其相关性研究. *中国临床新医学* 2011; 4: 916-919
- 7 Sadek CM, Jiménez A, Damdimopoulos AE, Kieselbach T, Nord M, Gustafsson JA, Spyrou G, Davis EC, Oke R, van der Hoorn FA, Miranda-Vizuete A. Characterization of human thioredoxin-like 2. A novel microtubule-binding thioredoxin expressed predominantly in the cilia of lung airway epithelium and spermatid manchette and axoneme. *J Biol Chem* 2003; 278: 13133-13142 [PMID: 12569107 DOI: 10.1074/jbc.M300369200]
- 8 Fournier HN, Dupé-Manet S, Bouvard D, Lacombe ML, Marie C, Block MR, Albiges-Rizo C. Integrin cytoplasmic domain-associated protein 1alpha (ICAP-1alpha) interacts directly with the metastasis suppressor nm23-H2, and both proteins are targeted to newly formed cell adhesion sites upon integrin engagement. *J Biol Chem* 2002; 277: 20895-20902 [PMID: 11919189 DOI: 10.1074/jbc.M200200200]
- 9 Otsuki Y, Tanaka M, Yoshii S, Kawazoe N, Nakaya K, Sugimura H. Tumor metastasis suppressor nm23H1 regulates Rac1 GTPase by interaction with Tiam1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 4385-4390 [PMID: 11274357 DOI: 10.1073/pnas.071411598]
- 10 Buxton IL, Yokdang N. Extracellular NM23 Signaling in Breast Cancer: Incommodus Verum. *Cancers (Basel)* 2011; 3: 2844-2857 [PMID: 22091350 DOI: 10.3390/cancers3032844]
- 11 Cheng S, Alfonso-Jaume MA, Mertens PR, Lovett DH. Tumour metastasis suppressor, nm23-beta, inhibits gelatinase A transcription by interference with transactivator Y-box protein-1 (YB-1). *Biochem J* 2002; 366: 807-816 [PMID: 12010125]
- 12 Ma D, McCorkle JR, Kaetzel DM. The metastasis suppressor NM23-H1 possesses 3'-5' exonuclease activity. *J Biol Chem* 2004; 279: 18073-18084 [PMID: 14960567 DOI: 10.1074/jbc.M400185200]
- 13 Marino N, Marshall JC, Collins JW, Zhou M, Qian Y, Veenstra T, Steeg PS. Nm23-h1 binds to gelsolin and inactivates its actin-severing capacity to promote tumor cell motility and metastasis. *Cancer Res* 2013; 73: 5949-5962 [PMID: 23940300]
- 14 Patel-King RS, Benashski SE, King SM. A bipartite Ca²⁺-regulated nucleoside-diphosphate kinase system within the Chlamydomonas flagellum. The regulatory subunit p72. *J Biol Chem* 2002; 277: 34271-34279 [PMID: 12095989 DOI: 10.1074/jbc.M204137200]
- 15 Yang YQ, Wu L, Chen JX, Sun JZ, Li M, Li DM, Lu HY, Su ZH, Lin XQ, Li JC. Relationship between nm23H1 genetic instability and clinical pathological characteristics in Chinese digestive system cancer patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5549-556; discussion 5555 [PMID: 18810774 DOI: 10.3748/wjg.14.5549]
- 16 Sirotkovic-Skerlev M, Krizanac S, Kapitanovic S, Husnjak K, Unusic J, Pavelic K. Expression of c-myc, erbB-2, p53 and nm23-H1 gene product in benign and malignant breast lesions: coexpression and correlation with clinicopathologic parameters. *Exp Mol Pathol* 2005; 79: 42-50 [PMID: 16005711 DOI: 10.1016/j.yexmp.2005.02.004]
- 17 Ohba K, Miyata Y, Koga S, Kanda S, Kanetake H. Expression of nm23-H1 gene product in sarcomatous cancer cells of renal cell carcinoma: correlation with tumor stage and expression of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, sialyl Lewis X, and c-erbB-2. *Urology* 2005; 65: 1029-1034 [PMID: 15882758 DOI: 10.1016/j.urol.2004.12.032]
- 18 Seifert M, Welter C, Mehraein Y, Seitz G. Expression of the nm23 homologues nm23-H4, nm23-H6, and nm23-H7 in human gastric and colon cancer. *J Pathol* 2005; 205: 623-632 [PMID: 15726650 DOI: 10.1002/path.1724]
- 19 李秀娟, 刘军超, 张林西, 金春亭, 范婕, 李玉珍, 李海. 食管鳞癌组织中nm23的表达及临床意义. *河北北方学院学报(自然科学版)* 2012; 28: 72-74
- 20 刘华, 朱亚宁, 陈小飞. 食管鳞癌组织中Ki-67和nm23的表达及其临床意义. *现代医学* 2012; 40: 286-290
- 21 Szumilo J, Skomra D, Chibowski D, Dabrowski A, Wallner G, Maciejewski R. Immunoeexpression of nm23 in advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; 40: 377-380 [PMID: 12502190]
- 22 鲍正齐, 陶仪声, 马莉. 食管鳞状细胞癌中VEGF和nm23表达和临床意义. *科技导报* 2010; 28: 98
- 23 周保平, 李维春, 周彩云. 食管癌中p53过表达、nm23低表达及其与预后的关系. *安徽卫生职业技术学院学报* 2013; 12: 83-84
- 24 Wang LS, Chow KC, Lien YC, Kuo KT, Li WY. Prognostic significance of nm23-H1 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 26: 419-424 [PMID: 15296908 DOI: 10.1016/j.ejcts.2004.03.045]
- 25 Du J, Hannon GJ. The centrosomal kinase Aurora-A/STK15 interacts with a putative tumor suppressor NM23-H1. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 5465-5475 [PMID: 12490715 DOI: 10.1093/nar/gkf678]
- 26 Liu WK, Fu Q, Li YM, Jiang XY, Zhang MP, Zhang ZX. The relationship between cyclooxygenase-2, CD44v6, and nm23H1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Onkologie* 2009; 32: 574-578 [PMID: 19816074 DOI: 10.1159/000232346]
- 27 史宏伟, 侯振江. nm23基因在消化道肿瘤研究中的应用. *中国民族民间医药* 2010; 12: 24-25
- 28 魏华兵, 曹子昂, 刘强, 潘文标, 傅于捷, 钱晓哲. 食管鳞癌组织中nm23-H1的表达及临床意义. *现代医学* 2010; 38: 501-504
- 29 刘立刚, 潘铁成, 魏翔, 李军, 潘友民. 食管鳞状细胞癌中nm23-H1和p53蛋白表达及其相互关系. *现代肿瘤医学* 2007; 15: 1111-1115
- 30 任宏, 李刚, 杜宁, 张靖, 沈亮. 食管鳞癌中bc12与nm23-H1基因表达情况与纵隔淋巴结转移的相关研究. *现代肿瘤医学* 2008; 16: 1503-1505
- 31 任宏, 姚佳, 杜宁, 赵磊, 赵阳, 熊健. 食管鳞癌中Survivin和nm23-H1表达及其联合检测的临床意义. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 1255-1259
- 32 犹东, 高平. 食管癌中p53与nm23-H1基因表达的临床意义. *宁夏医学杂志* 2007; 29: 869-871

■同行评价

本文为nm23基因在食管癌预后监测中的研究进展,是关于食管癌基因诊断较新的综述,立题较新颖,文中大多描述国内部分学者研究现状,写作思路清晰,条理清楚,文字表达流畅。评价、观点分析及展望也较客观,是一篇较好的综述。

- 33 陈艳, 王洪江, 李卉, 庞作良, 李秀梅, 姜孝芳, 冉继华, 谌宏鸣, 李惠武. MTA1和nm23-H1与哈萨克族食管癌生物学行为的关系. 新疆医科大学学报 2010; 33: 746-749
- 34 Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004; 87: 95-104 [PMID: 15282704 DOI: 10.1002/jso.20070]
- 35 Tanimoto S, Fukumori T, El-Moula G, Shiirevnyamba A, Kinouchi S, Koizumi T, Nakanishi R, Yamamoto Y, Taue R, Yamaguchi K, Nakatsuji H, Kishimoto T, Izaki H, Oka N, Takahashi M, Kanayama HO. Prognostic significance of serum hepatocyte growth factor in clear cell renal cell carcinoma: comparison with serum vascular endothelial growth factor. *J Med Invest* 2008; 55: 106-111 [PMID: 18319552 DOI: 10.2152/jmi.55.106]
- 36 Shimada H, Takeda A, Nabeya Y, Okazumi SI, Matsubara H, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Kobayashi S, Suzuki T, Ochiai T. Clinical significance of serum vascular endothelial growth factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 663-669 [PMID: 11505413 DOI: 10.1002/1097-0142(20010801)92: 3<663: : AID-CNCR1368>3.0.CO; 2-L]
- 37 Nemoto T, Kitagawa M, Hasegawa M, Ikeda S, Akashi T, Takizawa T, Hirokawa K, Koike M. Expression of IAP family proteins in esophageal cancer. *Exp Mol Pathol* 2004; 76: 253-259 [PMID: 15126108]
- 38 钱志英, 何流, 何晓松, 冯继峰, 唐金海, 潘良熹, 张成阳. 荧光定量PCR法检测食管癌外周血Survivin mRNA的临床意义. 实用临床医药杂志 2006; 10: 56-58
- 39 臧真真, 刘泓基. 食管癌与相关抑癌基因. 医学综述 2009; 15: 3427-3429
- 40 Shimada H, Takeda A, Arima M, Okazumi S, Matsubara H, Nabeya Y, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Suzuki T, Kobayashi S, Ochiai T. Serum p53 antibody is a useful tumor marker in superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 1677-1683 [PMID: 11042560 DOI: 10.1002/1097-0142(20001015)89: 8<1677: : AID-CNCR5>3.0.CO; 2-9]
- 41 王亚莉, 王建刚, 刘琳. 食管鳞癌nm23-H1及基质金属蛋白酶-7蛋白表达的临床病理意义. 新乡医学院学报 2008; 25: 23-26
- 42 Tanioka Y, Yoshida T, Yagawa T, Saiki Y, Takeo S, Harada T, Okazawa T, Yanai H, Okita K. Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase-9 are associated with unfavourable prognosis in superficial oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 2116-2121 [PMID: 14647147 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601372]
- 43 El-Kenawy Ael-M, Lotfy M, El-Kott A, El-Shahat M. Significance of matrix metalloproteinase 9 and CD34 expressions in esophageal carcinoma: correlation with DNA content. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 791-794 [PMID: 16145342 DOI: 10.1097/01.mcj.0000177244.59591.c3]
- 44 武彤彤, 杨清绪, 朱淑玲. 食管鳞状细胞癌组织MMP-9与TIMP- I 表达. 当代医学 2009; 15: 27-28
- 45 苏乃伟, 冯旭, 覃家锦. MMP-9、nm23在广西食管癌患者中的表达及其相关性研究. 广西医学 2012; 34: 4-7
- 46 张明伟, 王芳, 张雷, 尚宪荣. 基因nm23-H1和TGFB1在人体食管癌中的表达及其临床病理关系的意义. 临床和实验医学杂志 2008; 7: 43-44
- 47 李红, 朱国卿, 王怀清. 食管癌组织中nm23-H1、TGF-B1的表达及意义. 山东医药 2008; 48: 104-105
- 48 Szachnowicz S, Ceconello I, Iriya K, Marson AG, Takeda FR, Gama-Rodrigues JJ. Origin of adenocarcinoma in Barrett's esophagus: p53 and Ki67 expression and histopathologic background. *Clinics (Sao Paulo)* 2005; 60: 103-112 [PMID: 15880245 DOI: 10.1590/S1807-59322005000200005]
- 49 刘剑, 斯诚, 李群. Ki-67与nm23在直肠癌中的表达及相关性预后关系研究. 浙江预防医学 2005; 17: 96-101
- 50 孙瑞清, 吴建农, 陈淼. 食管鳞癌组织中P-gp和nm23表达的意义及其对预后的影响. 江苏大学学报(医学版) 2006; 16: 406-408
- 51 杨书云, 于兰, 何松. 乳腺癌组织中耐药和转移相关基因联合表达的临床病理分析. 南通医学院学报 2004; 24: 406-408
- 52 侯振江, 侯建章. CerbB-2基因在消化道肿瘤研究中的进展. 国际检验医学杂志 2013; 34: 1116-1119
- 53 王丰梅, 郭新建, 韩静琦, 冶俊玲, 赵文辉. nm23-H1、cerbB-2在食管癌的表达及其与预后的关系. 青海医学院学报 2007; 28: 111-113
- 54 王光锋, 孙伟, 尹相丛, 陈登攀. nm23-H1在血清、胃癌组织中表达与胃癌临床TNM分期的关系. 中国中医药现代远程教育 2009; 7: 11-12
- 55 郭建海, 杨仁杰. 血清nm23-H1水平对肝细胞肝癌TACE治疗预后的影响. 介入放射学杂志 2010; 19: 463-466

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的研究进展

邢军明, 黄志刚

邢军明, 黄志刚, 广东医学院公共卫生学院流行病学与卫生统计学教研室 广东省东莞市 523808
邢军明, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤分子流行病学研究.
广东省自然科学基金资助项目, No. 10452402301005604
作者贡献分布: 本文综述由邢军明完成; 黄志刚审核.
通讯作者: 黄志刚, 副教授, 523808, 广东省东莞市松山湖科技园新城大道1号, 广东医学院公共卫生学院流行病学与卫生统计学教研室. hzg71@126.com
电话: 0769-22896574
收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-24
接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

Association between CagA/ERK signaling pathway and gastric cancer

Jun-Ming Xing, Zhi-Gang Huang

Jun-Ming Xing, Zhi-Gang Huang, Department of Epidemiology and Medical Statistics, School of Public Health, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, Guangdong Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 10452402301005604
Correspondence to: Zhi-Gang Huang, Associate Professor, Department of Epidemiology and Medical Statistics, School of Public Health, Guangdong Medical College, 1 Xincheng Avenue, Science and Technology Town of Songshan Lake, Dongguan 523808, Guangdong Province, China. hzg71@126.com
Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-24
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

Abstract

Cytotoxin-associated gene A (CagA) of *Helicobacter pylori* is the first identified bacterial oncoprotein that plays a critical role in gastric carcinogenesis. Upon delivery into gastric epithelial cells via type IV secretion, CagA can interfere with a number of host signaling pathways. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) signaling pathway is a hub in cellular signal transduction, through which CagA elicits a series of cellular events including cell proliferation, apoptosis, scatter and metastasis, all of which are associated with gastric carcinogenesis. Here we perform a review of the association between CagA/ERK signaling pathway and gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; CagA; ERK; Gastric cancer

Xing JM, Huang ZG. Association between CagA/ERK signaling pathway and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3363-3368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3363.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3363>

摘要

细胞毒素相关基因A蛋白(cytotoxin-associated gene A, CagA)是幽门螺杆菌重要毒力因子之一, 亦被称为细菌癌蛋白, 可通过IV型分泌系统易位进入胃上皮细胞, 干扰多条信号转导通路. 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路在细胞信号传导中处于枢纽地位, 癌蛋白CagA可通过激活ERK信号通路对细胞的增殖、凋亡、分散和转移等生物学行为产生影响, 与胃癌的发生、发展有关. 本文对CagA、ERK信号通路与胃癌的研究进展做一综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 细胞毒素相关基因A蛋白; 细胞外信号调节激酶; 胃癌

核心提示: 癌蛋白细胞毒素相关基因A蛋白(cytotoxin-associated gene A, CagA)通过激活细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号通路导致宿主细胞发生恶性转化, 在胃癌的发生、发展过程中可能发挥重要作用. 研究CagA、ERK信号通路与胃癌的关系, 将为揭示CagA蛋白的致癌机制提供新的研究证据, 并有望为幽门螺杆菌诱发胃癌的分子机制研究提供新思路和新靶点.

邢军明, 黄志刚. 癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3363-3368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3363.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3363>

0 引言

胃癌是临床上常见的恶性肿瘤之一, 在全球肿

■背景资料

胃癌在全球肿瘤死因谱中稳居第二位, 目前虽已明确幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是导致胃癌的重要危险因素, 但其诱发胃癌的分子机制尚不清楚. 细胞毒素相关基因A蛋白(cytotoxin-associated gene A, CagA)是 *H. pylori* 感染导致宿主产生炎症反应的重要效应蛋白, CagA在宿主细胞内可干扰多条信号途径, 而细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路在细胞信号传导中处于枢纽地位. CagA蛋白可通过激活ERK信号通路对细胞的增殖、凋亡、分散和转移等生物学行为产生影响. 研究CagA蛋白、ERK信号通路与胃癌的关系, 对于揭示 *H. pylori* 相关胃癌的分子机制具有重要意义.

■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

■ 研发前沿

ERK信号通路是涉及*H. pylori*癌蛋白CagA致病机制的关键信号通路之一, ERK通路的异常激活在胃癌细胞的恶化转化过程中发挥重要作用。进一步揭示CagA蛋白激活ERK信号通路后的下游分子事件以及ERK通路与其他信号通路的相互作用关系将为CagA蛋白的致癌机制研究提供新的研究证据, 并有望为*H. pylori*诱发胃癌的分子机制研究提供新思路 and 新的靶点。

瘤死因谱中稳居第2位。尽管早已明确, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是人类胃癌的I类(即肯定的)致癌原, 但迄今为止, *H. pylori*诱发胃癌的分子机制尚未阐明^[1-3]。细胞毒素相关基因A蛋白(cytotoxin-associated gene A, CagA)是*H. pylori*感染导致宿主产生炎症反应及癌变的重要效应蛋白, 亦被称为细菌癌蛋白。CagA蛋白在宿主细胞内通过干扰多条信号途径, 对细胞的增殖、凋亡、分化等功能产生影响, 其中细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路是涉及CagA蛋白致病机制的关键信号通路之一^[4-6]。本文对于*H. pylori*癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌的研究进展做一综述。

1 *H. pylori*与癌蛋白CagA

*H. pylori*是一种可长期定植于人类胃黏膜的革兰氏阴性螺旋形微需氧菌, 在全世界范围内感染率超过50%。来自世界各地的流行病学研究证实, 幽门螺杆菌感染是诱发胃癌的重要危险因素^[7-9]。CagA蛋白是*H. pylori*最重要的毒力因子之一, 通常根据CagA蛋白表达与否将*H. pylori*分为两型: I型为高毒力株, 含*cagA*基因, 表达CagA和VacA蛋白, 具有空泡毒素活性; II型为低毒力株, 不含*cagA*基因, 不表达CagA和VacA蛋白, 无空泡毒素活性^[10]。研究显示, 感染高毒力株患者较之感染低毒力株者, 发生萎缩性胃炎和胃腺癌的危险性明显升高, 提示CagA可能与*H. pylori*相关胃癌的发生有关^[11-14]。

1993年Tunmmuru等^[15]首次用酶切*H. pylori*全基因组的方法克隆到了*cagA*基因, 其开放阅读框为4821 bp, 编码1181个氨基酸, 并发现所有15株产VacA菌株均含有该基因, 命名为细胞毒素相关基因A, 相应蛋白则命名为CagA。cagA基因位于cag致病岛(cag pathogenity island, cagPAI)一侧末端, cagPAI长约40 kb, 定位于谷氨酸消旋酶基因内部, 其G+C含量(35%)与基因组中的其他部分(39%)不同, 提示该基因群可能是在进化过程中由其他生物体通过水平转移而来^[16,17]。cagPAI内含有编码cagA和IV型分泌系统等31个基因。IV型分泌系统充当分子注射器样作用, 可以将CagA蛋白“注入”宿主细胞, CagA是第一个通过此方式进入真核细胞发挥作用的细菌蛋白^[18,19]。

CagA蛋白易位进入宿主细胞后, 定位于宿主细胞质膜的内表面, 并在此经Src家族蛋白激

酶(Src family kinases, SFKs)作用发生酪氨酸磷酸化, 磷酸化位点位于CagA分子C端谷氨酸-脯氨酸-异亮氨酸-酪氨酸-丙氨酸(EPIYA)重复序列中的酪氨酸残基^[20,21]。一般根据EPIYA重复序列可将CagA分为东亚型(含EPIYA-A、EPIYA-B和EPIYA-D重复基序, 简称A-B-D型)和西方型(含EPIYA-A、EPIYA-B和1个或多个EPIYA-C重复基序, 简称A-B-C型)^[22]。CagA的东亚型与西方型相比具有较强的诱导细胞发生蜂鸟样改变的能力。感染含东亚型CagA的*H. pylori*患者其胃黏膜炎症程度及胃炎、萎缩性胃炎的严重程度均高于感染含西方型CagA的*H. pylori*患者, 提示感染含东亚型CagA的*H. pylori*菌株致胃癌的危险性更高^[23-25]。

2 CagA与ERK通路

2.1 ERK通路 ERK是80年代末期发现的一类丝氨酸/苏氨酸激酶, 是传递丝裂原信号的信号蛋白。经典的ERK通路的信号传递过程包括: 细胞外信号→细胞受体→细胞内酪氨酸激酶→Ras蛋白→Raf蛋白→细胞外信号调节激酶激酶(extracellular-signal regulated kinase kinase, MEKK)→MEK→ERK1/2→转录因子→相关基因表达→细胞增生、转化^[26-28]。其中Ras蛋白是一种类似鼠肉瘤病毒的细胞癌蛋白, 具有活化态的GTP结合构象与失活态的GDP结合构象。两种构象可以相互转变, 在信号转导过程中发挥开关作用。Ras蛋白激活将Raf蛋白从胞浆转移到胞膜, 在胞膜上Raf蛋白被激活^[29,30]。Raf蛋白是丝裂原活化蛋白激酶的一种激酶, Raf蛋白被激活后, 其C端催化区能与MEK结合, 并使其催化区第Ⅷ亚区中两个丝氨酸磷酸化, 从而使MEK激活。MEK丝裂原介导的细胞外激酶属于少有的双重特异性激酶, 使酪氨酸和苏氨酸两个调节位点磷酸化而激活ERK^[31,32]。激活的ERK1/2转移到胞核, 通过磷酸化转录因子、细胞骨架相关蛋白、酶等多种底物来调节相关基因表达, 进而参与细胞生长、发育、分裂、迁移及凋亡等多种生理过程^[33-36]。

2.2 CagA激活ERK通路 CagA可通过依赖和不依赖于酪氨酸磷酸化的方式激活ERK通路: 首先, 酪氨酸磷酸化的CagA可激活含SH-2结构域的酪氨酸磷酸酶(tyrosine phosphatase, SHP-2), SHP-2由3个部分组成: N端区域有两个串联重复的SH-2结构域(N-SH2和C-SH2); 一个单一的催化蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase,

PTP)结构域和碳端部分^[37-39]. SH-2结构域在蛋白质组成中专一地同含有磷酸化酪氨酸的肽类相互作用. 由SHP-2的SH-2结构域识别的肽类同源序列, 能很好地与CagA的EPIYA基序的侧翼序列吻合. SHP-2是细胞多条信息传递和细胞骨架重构中的重要蛋白, 可通过一系列被激活的受体酪氨酸激酶, 调控细胞内的信号转导事件^[40-42]. 磷酸化的CagA特异性结合SHP-2的SH-2结构域使SHP-2活化, 致使Ras/Raf/MEK/ERK通路依次激活, 导致细胞骨架重排和细胞拉伸即“蜂鸟样表型”, 这是CagA蛋白导致细胞表型发生改变的主要机制之一^[43,44].

其次, CagA在体内、体外均可直接与生长因子受体结合蛋白-2(growth factor receptor-bound protein 2, GRB-2)相互作用, 发挥生长因子样作用, 激活RAS/MEK/ERK信号通路, 导致细胞增殖和胞间解离, 而这一作用与CagA酪氨酸磷酸化无关^[45]. 另外, CagA还可经由RAS/RAF/MEK/ERK信号通路可直接激活核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B), 诱导慢性炎症相关因子白介素-8(interleukin-8, IL-8)的释放, 同样该作用也与CagA酪氨酸磷酸化无关^[46].

3 CagA、ERK通路与胃癌

胃泌素(gastrin)是一种重要的胃肠激素, 胃泌素的表达水平随着肿瘤分化程度的降低而显著升高, 与刺激肿瘤细胞生长及肿瘤的淋巴结转移有关^[47-49]. Takaishi等^[50]研究认为, 在*H. pylori*感染相关性胃癌的发生、发展过程中, 胃泌素是其辅助因子. 新近Zhou等^[51]发现, CagA可通过MEK/ERK和JAK2通路上调胃泌素基因的表达, 该研究为CagA激活ERK通路促进胃癌的发生提供了证据.

CagA蛋白可增加正常胃黏膜细胞对致癌物二甲基胍的敏感性, 促进正常细胞发生恶性转化. ERK1/2通路特异性抑制剂PD98059可使*cagA*转染的细胞DNA合成显著受抑制, 细胞增殖活性明显下降, 并且转染*cagA*的细胞ERK1/2活性、RAS/MAPK通路的IQGAP-2蛋白(IQ domain GTPase-activating proteins, IQGAP-2)、R-Ras和B-Raf表达水平显著高于致癌物二甲基胍处理组和对照组, 提示CagA蛋白可通过激活ERK1/2通路诱导胃黏膜上皮细胞发生转化^[52].

Meyer-ter-Vehn等^[53]研究报道, 胃上皮细胞在*H. pylori*(CagA⁺)作用下可激活转录因子激活蛋白1(activator protein-1, AP-1), 从而诱导原

癌基因*c-fos*、*c-jun*的表达, 其作用机制与ERK/MAPK级联激活, 导致转录因子Ets样蛋白1(Ets-like protein 1, Elk-1)磷酸化及促进原癌基因*c-fos*的转录有关, 而*H. pylori*(CagA⁺)菌株与胃上皮细胞共培养, 并不会产生此效应, 提示CagA激活ERK通路与原癌基因的表达有关. Xu等^[54]研究发现, *H. pylori*菌株(CagA⁺)感染以及异位表达CagA蛋白均可使鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)表达上调, ODC是催化多胺形成的关键酶, 而多胺是促进细胞生长的关键成分. 采用信号通路抑制剂处理细胞后发现, CagA蛋白通过激活Src/MEK/ERK/c-Myc通路, 上调ODC表达, 发挥其促进细胞增殖作用.

蛋白磷酸酶2A癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)是新近发现的人类致癌蛋白, 在胃癌组织呈高表达^[55]. Zhao等^[56]报道, CIP2A表达上调与CagA蛋白及CagA的磷酸化作用有关, 并且该作用是通过激活Src/Ras/MAPK/ERK通路实现的. Liu等^[57]选择永生化胃黏膜上皮细胞GES-1, 研究CagA蛋白对抑癌基因*Runx3*的影响, 结果发现CagA通过Src/MEK/ERK和p38 MAPK通路对抑癌基因*Runx3*发挥抑制作用. 综上可知, CagA蛋白可通过ERK信号通路调控生长因子、激活癌基因、抑制抑癌基因表达, 导致细胞的增殖、凋亡异常, 进而在胃癌的发生、发展过程中发挥重要作用.

此外, CagA激活ERK信号导致细胞癌变还与细胞极性有关. 在非极性上皮细胞中, CagA异常活化ERK信号通路可诱导细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子p21^{WAF1/CIP1}累积, 从而导致细胞衰老样增殖阻滞; 而在极性上皮细胞中, CagA激活ERK信号可通过活化鸟嘌呤核苷酸交换因子H1-RhoA-RhoA相关激酶C-Myc信号途径抑制p21^{WAF1/CIP1}表达, 诱导细胞增殖. 以上研究提示, CagA可利用细胞极性-ERK信号通路来诱发癌变^[58]. 新近CagA激活ERK诱发癌变也获得了人群遗传易感性方面的研究证据^[59]: 针对CagA激活ERK信号通路下游涉及的8个基因24个SNPs进行研究发现, ERK rs5999749、Dock180 rs4635002和C3G rs7853122等3个位点的遗传变异与胃癌有关, 首次证实了CagA激活ERK通路会增加癌症的风险, 该研究进一步丰富了与CagA、ERK信号通路有关的胃癌的病因学研究内容.

■ 相关报道

*H. pylori*被认为是导致胃癌的I类致癌原, 但其诱发胃癌的分子机制尚未阐明. CagA蛋白作为*H. pylori*的重要毒力因子之一, 可易位进入宿主细胞, 干扰多条信号途径, 发挥其多种生物学作用. 已有研究证实, CagA蛋白可通过激活ERK信号通路对细胞的增殖、凋亡、分散和转移等生物学行为产生影响. 研究CagA蛋白、ERK信号通路与胃癌的关系, 对于揭示*H. pylori*相关胃癌的分子机制具有重要意义.

■创新盘点

本文在分别介绍癌蛋白CagA、ERK信号通路的基础上,首次比较完整、系统地介绍了目前癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的主要研究成果。

4 结论

ERK信号通路是涉及*H. pylori*癌蛋白CagA致癌机制的关键信号通路之一, ERK通路的异常激活在胃癌细胞的表型恶化、细胞增殖、凋亡等过程中发挥重要作用。今后要针对CagA蛋白激活ERK信号通路后的下游分子事件、对细胞恶性生物学行为的影响、对表观遗传学标志物的作用以及ERK通路与其他信号通路的相互作用关系等进一步展开研究,以期揭示CagA蛋白的致癌机制提供新的研究证据,并有望为*H. pylori*诱发胃癌的分子机制研究提供新的思路和新靶点。

5 参考文献

- Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR, Murray R, Blincow ED, Blackbourn SJ, Phillips M, Waters TE, Sanderson CR. Prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1988; 2: 1437-1442 [PMID: 2904568 DOI: 10.1016/S0140-6736(88)90929-4]
- Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann JH, Orentreich N, Sibley RK. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-1131 [PMID: 1891020 DOI: 10.1056/NEJM199110173251603]
- Backert S, Clyne M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2011; 16 Suppl 1: 19-25 [PMID: 21896081 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00876.x]
- Sachs G, Scott DR, Wen Y. Gastric infection by *Helicobacter pylori*. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 540-546 [PMID: 21993716 DOI: 10.1007/s11894-011-0226-4]
- Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA -- a bacterial intruder conspiring gastric carcinogenesis. *Int J Cancer* 2006; 119: 1217-1223 [PMID: 16557568 DOI: 10.1002/ijc.21831]
- Kikuchi S, Wada O, Nakajima T, Nishi T, Kobayashi O, Konishi T, Inaba Y. Serum anti-*Helicobacter pylori* antibody and gastric carcinoma among young adults. Research Group on Prevention of Gastric Carcinoma among Young Adults. *Cancer* 1995; 75: 2789-2793 [PMID: 7773928 DOI: 10.1002/1097-0142(19950615)75:12<2789::AID-CNCR2820751202>3.0.CO;2-4]
- Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 1175-1176 [PMID: 1682595 DOI: 10.1016/0140-6736(91)92035-Z]
- Nomura AM, Lee J, Stemmermann GN, Nomura RY, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* CagA seropositivity and gastric carcinoma risk in a Japanese American population. *J Infect Dis* 2002; 186: 1138-1144 [PMID: 12355365 DOI: 10.1086/343808]
- Xiang Z, Censini S, Bayeli PF, Telford JL, Figura N, Rappuoli R, Covacci A. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 1995; 63: 94-98 [PMID: 7806390]
- Kikuchi S, Crabtree JE, Forman D, Kurosawa M. Association between infections with CagA-positive or -negative strains of *Helicobacter pylori* and risk for gastric cancer in young adults. Research Group on Prevention of Gastric Carcinoma Among Young Adults. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3455-3459 [PMID: 10606302 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01607.x]
- Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 297-301 [PMID: 9135515]
- Hirata Y, Yanai A, Shibata W, Mitsuno Y, Maeda S, Ogura K, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Functional variability of cagA gene in Japanese isolates of *Helicobacter pylori*. *Gene* 2004; 343: 165-172 [PMID: 15563842 DOI: 10.1016/j.gene.2004.08.026]
- Kaklikkaya N, Cubukcu K, Aydin F, Bakir T, Erkul S, Tosun I, Topbas M, Yazici Y, Buruk CK, Erturk M. Significance of cagA status and vacA subtypes of *Helicobacter pylori* in determining gastric histopathology: virulence markers of *H. pylori* and histopathology. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1042-1047 [PMID: 16724992 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04199.x]
- Tummuru MK, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun* 1993; 61: 1799-1809 [PMID: 8478069]
- Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Watthey L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388: 539-547 [PMID: 9252185 DOI: 10.1038/41483]
- Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, Rappuoli R, Covacci A. cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 14648-14653 [PMID: 8962108 DOI: 10.1073/pnas.93.25.14648]
- Odenbreit S, Püls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000; 287: 1497-1500 [PMID: 10688800 DOI: 10.1126/science.287.5457.1497]
- Al-Ghoul L, Wessler S, Hundertmark T, Krüger S, Fischer W, Wunder C, Haas R, Roessner A, Naumann M. Analysis of the type IV secretion system-dependent cell motility of *Helicobacter pylori*-infected epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 860-866 [PMID: 15336542 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.199]

- 20 Selbach M, Moese S, Hauck CR, Meyer TF, Backert S. Src is the kinase of the *Helicobacter pylori* CagA protein in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 2002; 277: 6775-6778 [PMID: 11788577 DOI: 10.1074/jbc.C100754200]
- 21 Stein M, Bagnoli F, Halenbeck R, Rappuoli R, Fantl WJ, Covacci A. c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. *Mol Microbiol* 2002; 43: 971-980 [PMID: 11929545 DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.02781.x]
- 22 Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, Yamazaki S, Asaka M, Azuma T, Hatakeyama M. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 14428-14433 [PMID: 12391297 DOI: 10.1073/pnas.222375399]
- 23 Azuma T, Yamazaki S, Yamakawa A, Ohtani M, Muramatsu A, Suto H, Ito Y, Dojo M, Yamazaki Y, Kuriyama M, Keida Y, Higashi H, Hatakeyama M. Association between diversity in the Src homology 2 domain--containing tyrosine phosphatase binding site of *Helicobacter pylori* CagA protein and gastric atrophy and cancer. *J Infect Dis* 2004; 189: 820-827 [PMID: 14976598 DOI: 10.1086/381782]
- 24 Azuma T, Ohtani M, Yamazaki Y, Higashi H, Hatakeyama M. Meta-analysis of the relationship between CagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2004; 126: 1926-1927; author reply 1926-1927 [PMID: 15188206]
- 25 Satomi S, Yamakawa A, Matsunaga S, Masaki R, Inagaki T, Okuda T, Suto H, Ito Y, Yamazaki Y, Kuriyama M, Keida Y, Kutsumi H, Azuma T. Relationship between the diversity of the cagA gene of *Helicobacter pylori* and gastric cancer in Okinawa, Japan. *J Gastroenterol* 2006; 41: 668-673 [PMID: 16933004 DOI: 10.1007/s00535-006-1838-6]
- 26 龚小卫, 姜勇. 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)生物学功能的结构基础. *中国生物化学与分子生物学报* 2003; 19: 5-11
- 27 Rubinfeld H, Seger R. The ERK cascade as a prototype of MAPK signaling pathways. *Methods Mol Biol* 2004; 250: 1-28 [PMID: 14755077]
- 28 Ramos JW. The regulation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in mammalian cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 2707-2719 [PMID: 18562239 DOI: 10.1016/j.biocel.2008.04.009]
- 29 Eblen ST, Slack JK, Weber MJ, Catling AD. Rac-PAK signaling stimulates extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation by regulating formation of MEK1-ERK complexes. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 6023-6033 [PMID: 12167697 DOI: 10.1128/MCB.22.17.6023-6033.2002]
- 30 Marais R, Marshall CJ. Control of the ERK MAP kinase cascade by Ras and Raf. *Cancer Surv* 1996; 27: 101-125 [PMID: 8909797]
- 31 Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, Ip NY, Radziejewska E, Morgenbesser SD, DePinho RA, Panayotatos N, Cobb MH, Yancopoulos GD. ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell* 1991; 65: 663-675 [PMID: 2032290 DOI: 10.1016/0092-8674(91)90098-J]
- 32 Chambard JC, Lefloch R, Pouyssegur J, Lenormand P. ERK implication in cell cycle regulation. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1299-1310 [PMID: 17188374]
- 33 Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1213-1226 [PMID: 17112607]
- 34 De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N. The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16 Suppl 2: S17-S27 [PMID: 22443084 DOI: 10.1517/14728222.2011.639361]
- 35 McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Wong EW, Chang F, Lehmann B, Terrian DM, Milella M, Tafuri A, Stivala F, Libra M, Basecke J, Evangelisti C, Martelli AM, Franklin RA. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1263-1284 [PMID: 17126425]
- 36 Viala E, Pouyssegur J. Regulation of tumor cell motility by ERK mitogen-activated protein kinases. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1030: 208-218 [PMID: 15659800 DOI: 10.1196/annals.1329.027]
- 37 Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* 2002; 295: 683-686 [PMID: 11743164]
- 38 Yamazaki S, Yamakawa A, Ito Y, Ohtani M, Higashi H, Hatakeyama M, Azuma T. The CagA protein of *Helicobacter pylori* is translocated into epithelial cells and binds to SHP-2 in human gastric mucosa. *J Infect Dis* 2003; 187: 334-337 [PMID: 12552462 DOI: 10.1086/367807]
- 39 Hof P, Pluskey S, Dhe-Paganon S, Eck MJ, Shoelson SE. Crystal structure of the tyrosine phosphatase SHP-2. *Cell* 1998; 92: 441-450 [PMID: 9491886 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80938-1]
- 40 Feng GS, Hui CC, Pawson T. SH2-containing phosphotyrosine phosphatase as a target of protein-tyrosine kinases. *Science* 1993; 259: 1607-1611 [PMID: 8096088 DOI: 10.1126/science.8096088]
- 41 Ahmad S, Banville D, Zhao Z, Fischer EH, Shen SH. A widely expressed human protein-tyrosine phosphatase containing src homology 2 domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 2197-2201 [PMID: 7681589 DOI: 10.1073/pnas.90.6.2197]
- 42 Neel BG, Gu H, Pao L. The 'Shp'ing news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 284-293 [PMID: 12826400 DOI: 10.1016/S0968-0004(03)00091-4]
- 43 Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, Yokoyama K, Fujii Y, Ishikawa S, Higuchi M, Takahashi A, Kurashima Y, Teishikata Y, Tanaka S, Azuma T, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 17205-17216 [PMID: 14963045 DOI: 10.1074/jbc.M309964200]
- 44 Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, Higashi H, Hatakeyama M. Focal adhesion kinase is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *Helicobacter pylori* CagA. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 261-276 [PMID: 16354697 DOI: 10.1128/MCB.26.1.261-276.2006]
- 45 Mimuro H, Suzuki T, Tanaka J, Asahi M, Haas R, Sasakawa C. Grb2 is a key mediator of *Helicobacter pylori* CagA protein activities. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 745-755 [PMID: 12419219 DOI: 10.1016/

■应用要点

该文章阐述了目前癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的主要研究进展,提出今后要针对CagA激活ERK信号通路后的下游分子事件、对细胞恶性生物学行为的影响、对表观遗传学标志物的作用以及ERK通路与其他信号通路的相互作用关系等展开研究,以期为进一步揭示H. pylori相关胃癌的分子机制提供重要依据。

■同行评价

本文比较系统地
对目前癌蛋白
CagA、ERK信号
通路及胃癌关系
的主要研究成果
进行了综述,使读
者对癌蛋白CagA
与*H. pylori*相关胃
癌的关系有了进
一步的认识,为*H.
pylori*诱发胃癌的
分子机制研究提
供了新的思路和
新靶点.

- S1097-2765(02)00681-0]
- 46 Brandt S, Kwok T, Hartig R, König W, Backert S. NF-kappaB activation and potentiation of pro-inflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 9300-9305 [PMID: 15972330 DOI: 10.1073/pnas.0409873102]
 - 47 Ito M, Tanaka S, Maeda M, Takamura A, Tatsugami M, Wada Y, Matsumoto Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Role of the gastrin-gastrin receptor system in the expansive growth of human gastric neoplasms. *Digestion* 2008; 78: 163-170 [PMID: 19065055 DOI: 10.1159/000181146]
 - 48 Hur K, Kwak MK, Lee HJ, Park DJ, Lee HK, Lee HS, Kim WH, Michaeli D, Yang HK. Expression of gastrin and its receptor in human gastric cancer tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 85-91 [PMID: 16228228 DOI: 10.1007/s00432-005-0043-y]
 - 49 Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1-16 [PMID: 19115463 DOI: 10.3748/wjg.15.1]
 - 50 Takaishi S, Tu S, Dubeykovskaya ZA, Whary MT, Muthupalani S, Rickman BH, Rogers AB, Lertkowitz N, Varro A, Fox JG, Wang TC. Gastrin is an essential cofactor for *helicobacter*-associated gastric corpus carcinogenesis in C57BL/6 mice. *Am J Pathol* 2009; 175: 365-375 [PMID: 19556515 DOI: 10.2353/ajpath.2009.081165]
 - 51 Zhou J, Xie Y, Zhao Y, Wang S, Li Y. Human gastrin mRNA expression up-regulated by *Helicobacter pylori* CagA through MEK/ERK and JAK2-signaling pathways in gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 2011; 14: 322-331 [PMID: 21509655 DOI: 10.1007/s10120-011-0044-2]
 - 52 Zhu Y, Zhong X, Zheng S, Du Q, Xu W. Transformed immortalized gastric epithelial cells by virulence factor CagA of *Helicobacter pylori* through Erk mitogen-activated protein kinase pathway. *Oncogene* 2005; 24: 3886-3895 [PMID: 15856031 DOI: 10.1038/sj.onc.1208551]
 - 53 Meyer-ter-Vehn T, Covacci A, Kist M, Pahl HL. *Helicobacter pylori* activates mitogen-activated protein kinase cascades and induces expression of the proto-oncogenes c-fos and c-jun. *J Biol Chem* 2000; 275: 16064-16072 [PMID: 10747974 DOI: 10.1074/jbc.M000959200]
 - 54 Xu X, Liu Z, Fang M, Yu H, Liang X, Li X, Liu X, Chen C, Jia J. *Helicobacter pylori* CagA induces ornithine decarboxylase upregulation via Src/MEK/ERK/c-Myc pathway: implication for progression of gastric diseases. *Exp Biol Med* (Maywood) 2012; 237: 435-441 [PMID: 22442341 DOI: 10.1258]
 - 55 Li W, Ge Z, Liu C, Liu Z, Björkholm M, Jia J, Xu D. CIP2A is overexpressed in gastric cancer and its depletion leads to impaired clonogenicity, senescence, or differentiation of tumor cells. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3722-3728 [PMID: 18559589 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4137.]
 - 56 Zhao D, Liu Z, Ding J, Li W, Sun Y, Yu H, Zhou Y, Zeng J, Chen C, Jia J. *Helicobacter pylori* CagA upregulation of CIP2A is dependent on the Src and MEK/ERK pathways. *J Med Microbiol* 2010; 59: 259-265 [PMID: 19959630 DOI: 10.1099/jmm.0.014704-0.]
 - 57 Liu Z, Xu X, Chen L, Li W, Sun Y, Zeng J, Yu H, Chen C, Jia J. *Helicobacter pylori* CagA inhibits the expression of Runx3 via Src/MEK/ERK and p38 MAPK pathways in gastric epithelial cell. *J Cell Biochem* 2012; 113: 1080-1086 [PMID: 22266963 DOI: 10.1002/jcb.23440.]
 - 58 Saito Y, Murata-Kamiya N, Hirayama T, Ohba Y, Hatakeyama M. Conversion of *Helicobacter pylori* CagA from senescence inducer to oncogenic driver through polarity-dependent regulation of p21. *J Exp Med* 2010; 207: 2157-2174 [PMID: 20855497 DOI: 10.1084/jem.20100602]
 - 59 Yang JJ, Cho LY, Ma SH, Ko KP, Shin A, Choi BY, Han DS, Song KS, Kim YS, Chang SH, Shin HR, Kang D, Yoo KY, Park SK. Oncogenic CagA promotes gastric cancer risk via activating ERK signaling pathways: a nested case-control study. *PLoS One* 2011; 6: e21155 [PMID: 21698158 DOI: 10.1371/journal.pone.0021155]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝损伤修复机制的研究进展

张文娟, 郭昱

张文娟, 郭昱, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

张文娟, 河北医科大学在读硕士, 主要从事肝病的基础与临床的研究。

河北省自然科学基金资助项目, No. C2009001123

作者贡献分布: 本文综述由张文娟完成; 由郭昱审核

通讯作者: 郭昱, 副教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

guoyu123123@sina.com

电话: 0311-66002958

收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-10-04

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-08

Mechanisms of liver repair following injury

Wen-Juan Zhang, Yu Guo

Wen-Juan Zhang, Yu Guo, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Hebei Province, No. C2009001123

Correspondence to: Yu Guo, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. guoyu123123@sina.com

Received: 2013-09-04 Revised: 2013-10-04

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-08

Abstract

Liver injury caused by a variety of physical or chemical factors is a common disease, and severe or persistent liver injury can ultimately lead to acute liver failure. Its treatment is still a formidable challenge to clinicians. Elucidation of mechanisms underlying liver repair following injury is the cornerstone of treatment of hepatic diseases. Despite many research efforts over the past decades, the mechanisms behind liver repair following injury are still not clear. Recent studies have demonstrated that oval cells and bone marrow stem cells are involved in this complex process. A variety of cells and factors may play a role in different stages of this process. In this paper, we will review mechanisms of liver repair following injury.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver injury; Repair; Mechanism

Zhang WJ, Guo Y. Mechanisms of liver repair following injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3369-3375
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3369.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3369>

摘要

肝损伤是临床上的常见病, 各种物理和化学因素均可导致急、慢性肝损伤, 严重或持续的肝损伤最终可导致急性肝功能衰竭, 危及患者生命。肝损伤及其修复一直是肝脏疾病研究的前沿热点问题。认识肝损伤修复机制是治疗肝病的基础。肝损伤的修复是个复杂的过程, 近年来大量研究发现卵圆细胞、骨髓干细胞等可能参与损伤修复, 为临床治疗肝病提供新的途径。不同程度的肝损伤其修复方式有所不同, 各种细胞和因子可能在不同阶段起作用, 本文将从参与肝损伤的四种不同类型细胞和调控其增殖分化的信号通路方面, 对其修复机制作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝损伤; 修复; 机制

核心提示: 肝损伤的修复是个复杂的过程, 有多种细胞及因子的参与, 然而各种细胞在什么情况下参与及其受什么样的信号通路调节呢, 本文将分别从4种细胞的作用方面做一介绍。

张文娟, 郭昱. 肝损伤修复机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3369-3375 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3369>

0 引言

肝脏是营养和药物新陈代谢的主要器官, 产生消化所必须的化学物质, 具有强大的再生和修复能力。各种物理和化学因素均可导致急、慢性肝损伤, 可人为地分为化学性损伤和免疫性损伤。肝损伤及其修复一直是肝脏疾病研究的前沿热点问题, 了解肝损伤修复过程及分子机

■背景资料

据统计显示, 我国每年因为重症肝功能衰竭导致死亡的人数为30.5万, 肝损伤后的高死亡率和预后差一直是医学界的难题, 因此肝损伤及其修复一直是肝脏疾病研究的前沿热点问题, 更好的认识肝损伤修复机制是治疗肝病的基础。

■同行评议者

张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

■ 研发前沿

卵圆细胞、骨髓干细胞等是否参与肝损伤修复及调控其的信号通路是研究的热点。如何通过调节各种因子及信号通路,诱导卵圆细胞和骨髓干细胞定向分化为肝细胞,防止其过度增殖转化为癌细胞,是亟待研究的问题。

制,将为肝损伤的治疗提供理论依据。不同程度的肝损伤其修复方式有所不同。急性肝损伤之后,肝脏经历创伤修复的过程,恢复组织构架和维护体内平衡^[1],一般认为,在修复损伤的肝组织的过程中涉及到3种来源的细胞,轻度肝损伤,肝细胞的缺失由成熟肝细胞的增殖来代替;更严重的肝损伤,诱导定植于肝内胆道树分支终端的卵圆细胞的激活,他可以分化为肝细胞和胆管上皮细胞;第3个层次的替代细胞来源于骨髓^[2]。另外还有肝非实质细胞的参与。肝损伤的修复过程是多种因素的综合作用,组织整体性的恢复要求不同细胞(例如:肝细胞、胆管上皮细胞、内皮细胞、星状细胞、淋巴细胞和巨噬细胞)平衡的重建和肝脏基质提供框架^[3]及多种细胞因子的参与。

1 肝损伤后成熟肝细胞的增殖

轻度的肝细胞损伤或局部切除后,由周围成熟肝细胞分裂增殖,恢复原有的体积和功能,并不涉及干细胞。虽然经过了几十年的研究,成熟肝细胞的最终的增值能力仍然不清楚。在健康肝脏中大多数成熟肝细胞合成DNA不活跃,大多数成熟肝细胞已经退出细胞周期的增殖相,多数处于G₀期。但70%肝切除或各种肝毒素导致肝损伤后,成熟肝细胞中DNA合成和有丝分裂显著增加,所以被认为在肝损伤后成熟肝细胞重新进入细胞周期进行增殖^[4]。这已通过成熟肝细胞的分离及原代培养得到证实,然而体外实验中原代细胞复制能力有限,同时各种肝脏细胞群之间的精确的协调反应对于肝脏再生也是非常必要的。

1.1 增殖的启动(G₀期到G₁期) 肝损伤后损伤相关因子,例如:肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及其细胞产物活性氧,触发了存活肝细胞的增殖反应,同时细胞周期相关基因和关键转录因子例如细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)被激活^[5],从而推动静止期肝细胞(G₀期)进入增殖前期(G₁期)。有趣的是,这些“起始因子”同时也可以介导细胞死亡。在一些动物实验中首先给予TNF- α 的中和抗体预处理,或通过基因操作使其不表达TNF- α I类受体,部分肝切除(partial hepatectomy, PH)后不再有活性氧产生,结果没有肝脏再生发生,而破坏TNF- α II类受体,则肝

脏再生不受影响^[6]。TNF即能诱导肝细胞再生又能诱导其凋亡,而在NF- κ B缺乏的小鼠中导致肝细胞大量凋亡^[7]。因此推测诱生的NF- κ B可通过激活一定数量的细胞保护性基因的转录而保护肝细胞,如诱导型一氧化氮合成酶^[8]、锰超氧化物歧化酶等,从而避免了细胞凋亡,保证肝细胞增殖。TNF/NF- κ B信号通路诱导肝细胞进入有丝分裂的细胞周期^[9]。

1.2 遗传物质的复制(S期) 处于细胞周期中复制前期的细胞并非总是可以进入到DNA复制期,一些机制的存在使收到严重氧化损伤的细胞停留于G₁期及S期之间^[10]。生长休止特定蛋白1抗体(growth arrest specific gene 1, Gas1)^[11]、cyclin D/A2和细胞周期依赖性激酶2(cyclin-dependent kinase-2, CDK2)^[12],促进G₁期进入S期。并已经从PH后动物血清中分离出促使G₁期肝细胞进入S期的细胞因子,包括刺激DNA合成的完全的有丝分裂原,如表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、TNF- α 、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等,还有可以增加有丝分裂原诱导DNA合成的辅有丝分裂原,如胰岛素、胰高血糖素、去甲肾上腺素、肝生长刺激物等。其他一些因子,如转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)超家族成员,可抑制培养液中有丝分裂原诱导的肝细胞DNA合成^[13]。最近研究证明PH后,肝细胞快速增殖与腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)磷酸化增加相关,敲除AMPK α 1通过影响G₁期向S期转化而延迟肝再生^[14]。

1.3 细胞分裂(G₂到M期) 完成S期的肝细胞,含有额外的DNA拷贝,可以称之为多倍体。PH后虽然大部分肝细胞都经历S期,但不是所有的都会有细胞分裂,而是增加多倍体肝细胞的数目^[15,16]。应用错配修复基因Msh2失活的小鼠纤维母细胞的实验结果提示, DNA碱基剪切修复机制可以调节多倍性^[17]。当细胞内的DNA被复制后,需要激活其他机制以确保细胞可以分裂成两个子细胞。M期促进因子cyclin B和CDK1,可以调节细胞进入M期^[18,19]。

1.4 增殖反应的终止 最后肝脏是如何“获知”增殖已经完成并返回平常的低增殖状态尚须解决,无论是在PH前或后,转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和其他因子抑制细胞增殖已经得到确认^[20],在再生肝脏中TGF- β 的表达出现一过性的增加,提示其可提供

重要的生长抑制信号. 然而, 过度表达TGF- β 的转基因小鼠行PH后, 发现其肝脏仍可再生^[21]. 因此, 必然有其他机制参与PH后终止肝脏的增殖反应, 目前尚不十分清楚.

2 肝卵圆细胞对肝损伤修复的作用

肝细胞的增殖在肝损伤后的肝再生中起着基本的作用, 然而, 当肝细胞的增殖受到损害和延迟时, 卵圆细胞将增殖和侵入到邻近的肝实质内, 分化为肝细胞和胆管细胞^[22-24].

2.1 卵圆细胞的特点及作用 肝卵圆细胞被认为是肝脏的祖细胞, 具有形态小、核质比率高的特点. 在多个独立研究中发现卵圆细胞和其他细胞表达共同的分子标志物, 例如成熟肝细胞标志物: 细胞角蛋白7、19(cytokeratin 7, 19, CK7, 19), 卵圆细胞标志物OV-6; 胎肝细胞标志物甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP); 造血干细胞标志物Thy-1、Sca-1、c-kit等^[25]. 尽管过去表明卵圆细胞存在于Herring管, 但是这些细胞的精确起源尚不清楚. Li等^[26]成功建立2-AAF/PH(2-乙酰氨基芴灌胃+2/3肝切除)模型后, 在门静脉周围和小叶间胆管发现了成簇或分散的卵圆细胞, 并通过免疫染色和细胞计数分析, 分离卵圆细胞, 之后进行卵圆细胞移植, 结果与对照组相比, 明显延长大鼠的中位生存期和改善肝功能. 实验证明急性肝损伤后, 卵圆细胞被激活, 增殖分化为肝细胞和胆管上皮细胞, 在肝脏的再生中起作用.

2.2 影响卵圆细胞增殖分化的因素 卵圆细胞的增殖分化受多种因素的影响, 生长因子(例如TGF- α 、EGF、HGF)和干细胞因子激活卵圆细胞, 卵圆细胞自身也能产生一些细胞因子^[27]. 有实验证明, 增殖的卵原细胞与星状细胞密切联系, 表明非实质细胞通过分泌生长因子、细胞因子和直接的细胞间相互作用促进卵原细胞的生长和分化^[28]. 卵圆细胞和肝细胞的细胞生长有相似的方面, 地塞米松处理后抑制白介素-6(interleukin-6, IL-6)和TNF的产生, 不仅抑制肝细胞复制, 同时也抑制卵圆细胞增殖^[29]. 在无胆碱乙硫氨酸饲料(CDE饮食)诱导的卵圆细胞增殖模型小鼠中, 过表达TNF、IL-6、抑癌蛋白M和其他与卵圆细胞快速增殖相关的因子, 而TNF基因敲除小鼠在用CDE饮食喂养一小段时间, 卵圆细胞的增殖、分化和癌变也受到严重的抑制^[30]. TNF相似的凋亡诱导分子(TNF-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)也可以通过结合其受体成

纤维细胞生长因子诱导早期反应蛋白14(fibroblast growth factor-inducible 14, FN-14)激活老鼠本身的肝干/祖细胞(卵圆细胞), 影响肝脏修复, TWEAK表达于胆管上皮细胞表面, 不诱导成熟肝细胞和胆管上皮细胞的增殖^[31,32]. 有研究证明甲状腺激素促进卵圆细胞的增殖分化为肝细胞^[33]. 另外, 细胞外基质成分也影响卵圆细胞的增殖分化, matrilin-2是由肝卵圆细胞在肝脏再生过程中产生的细胞外基质蛋白, 促进肝卵圆细胞的分化, 是肝卵圆细胞分化的重要标志^[34]. 缝隙连接蛋白(connexin, CX)介导的缝隙连接细胞间通讯(gap junctional intercellular communication, GJIC)是细胞间最重要的信息交流形式, 调节组织的损伤及修复过程. 已有研究证明CX/GJIC可以调节体内卵圆细胞的增殖、分化过程^[35]. 虽然有大量的研究结果描述肝细胞和卵原细胞促进肝再生过程, 但我们仍缺乏决定哪种细胞开始增殖的分子机制. 正如前面提到的, 因为肝细胞和卵原细胞应答相似的细胞因子和生长因子, 应用高度敏感的毒性药物抑制肝细胞应答可能触发卵原细胞补偿性的应答反应.

一些研究开始阐明肝脏中干细胞或祖细胞激活过程中涉及到信号通路. 了解肝干细胞的调控机制非常重要, 因为他是理解干细胞驱动肝再生和其潜在应用价值的首要条件. 在这些通路中, 基质细胞衍生因子1 α (stromal derived factor alpha, SDF-1 α)通过与其特异受体结合激活卵圆细胞^[36]. 分子通路涉及到细胞因子被证明促进卵圆细胞的有丝分裂. 经典Wnt信号通路和Notch信号通路的激活可促进卵圆细胞的增殖和自我更新, 在成熟肝干细胞的活化和增殖过程中发挥重要作用^[37-39]. Kirillova等^[40]证明TNF能刺激体外卵圆细胞系增殖, 此作用与NF- κ B和STAT3相关. Sánchez等^[41]进一步验证了在体内肝再生过程中, 卵圆细胞的激活、增殖和分化与NF- κ B和STAT3有关. 多种因子和信号通路均可影响到卵圆细胞的增殖分化, 近年已做了大量的研究, 但其促进肝损伤修复的具体分子机制仍有待于进一步的研究.

3 骨髓干细胞在肝损伤修复中的作用

骨髓干细胞是存在于骨髓中的多能干细胞. 包括造血干细胞和间充质干细胞两类. 健康成人肝脏干细胞很少增殖, 曾被认为相当少的祖细胞存在于肝脏, 然而有资料表明骨髓干细胞可能是肝干细胞的来源^[42]. 在一般情况下骨髓内的

■ 相关报道

TNF/NF- κ B是诱导肝细胞进入有丝分裂的细胞周期的主要信号通路. 当肝细胞的增殖受到损害和延迟时, 卵圆细胞和骨髓干细胞被激活并参与肝损伤的修复, 在修复过程中, 肝星状细胞和枯否细胞等也起重要作用.

■创新盘点

本文首次从细胞方面阐述了不同程度的肝损伤时各细胞对其修复的贡献,并总结了近年来研究调节这些细胞促进损伤修复的主要因子及信号通路的作用,使人们更好地从细胞这个角度认识肝损伤的修复机制。

造血干细胞对于肝细胞的更新作用很小,但在严重创伤的情况下他对肝细胞的再生和功能恢复的作用却是非常重要的,他被称为肝外源性肝干细胞,在肝内可以转分化为肝卵圆细胞、肝细胞、胆管细胞^[43]. 补充部分肝实质细胞。

在对四氯化碳介导的肝损伤的动物模型进行人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMMSCs)移植中,发现hBMMSCs能有效地促进化学性肝损伤的恢复,可能通过两种机制的联合作用:移植的hBMMSCs分化为肝细胞能恢复正常的肝功能;移植的hBMMSCs表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)与肝纤维化的修复有关^[44]. 以前的多个研究中已经证明,在急性瞬变的条件下干细胞被动员^[45-48]. 但是在肝损伤的修复中骨髓源性造血干细胞参与的潜能仍然有争议. 尽管证明在骨髓移植的研究中,肝细胞再生和纤维重建有所改善,目前没有证据证明移植骨髓干细胞带来的肝细胞再生有一个稳定的或长期的移植存活率. 最近有动物实验对肝损伤大鼠进行骨髓干细胞移植,没有发现临床受益^[49]. 另外,在不同程度的慢性肝病患者中,骨髓造血干细胞既没有动员到循环系统,也不迁移至肝组织,恢复的过程可能依赖内源性肝祖细胞(卵圆细胞)的增殖^[2]. 一些学者解释这种有争议的结果,认为骨髓造血干细胞可能支持肝脏修复仅仅是通过传输生长因子促进肝再生、纤维重建和新生血管的重建. 也有人认为这种现象可以被解释为造血缺陷,这通常在慢性病中存在;或者是因为在损伤的肝脏微环境释放多种修正的液体因子. 与此假说相一致的研究显示,在恶性肿瘤肝切除后, SDF、MMP、HGF和IL-8下调减少骨髓造血干细胞的动员^[50]. 推测肝脏微环境可能在干细胞的征募中扮演两个不同的角色,在慢性损伤中作为抑制剂,在急性条件下作为诱导剂. 为证实这种相反作用的内在机制,有待于进一步更精确的研究关于肝脏释放的不同因子。

4 肝非实质细胞在肝损伤修复中的作用

肝非实质细胞在肝损伤修复过程中起重要作用,主要有肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)和枯否细胞(kupffer cell, KC). HSC在调节肝脏对损伤的应答中起关键作用,在正常健康的肝脏中, HSC是静止的状态;在应答肝损伤时, 肝脏修复过程中, Notch和Hedgehog信号通路相互作用刺激HSC分化为成纤维细胞,成纤维细胞变为

多能干细胞再生成肝细胞、胆管细胞和HSC, 调控肝脏的重塑^[51,52]. 同时活化的HSC肌纤维上调促纤维因子TGF-1 β 、细胞外基质蛋白 I 型和III型胶原、细胞外基质重构酶、基质金属蛋白酶和基质金属蛋白酶的抑制剂的组织抑制剂的表达和分泌. HSC分泌的瘢痕样基质抑制肝细胞增殖和肝再生^[53]. 而HSC表达的p75神经生长因子受体,能与神经生长因子(nerve growth factor, NGF)特异性结合,在肝损伤修复过程中能提高HGF的表达,促进受损肝细胞的再生和肝组织结构的恢复,并能调节HSC的激活,而在肝损伤的晚期,随着再生肝细胞和活化的HSC增多, NGF与p75神经生长因子受体结合能促进活化的HSC凋亡和肝纤维化逆转^[54,55].

枯否细胞具有吞噬和防御的功能,通过分泌多种细胞因子调控肝脏损伤和修复,如能分泌TNF- α 、IL-6、TGF- β 等^[56]. 枯否细胞的缺乏导致肝脏修复的明显延迟^[57]. 有文献报道, KC释放的TNF- α 能提高IL-6的表达^[58],诱导肝细胞由G₀期进入G₁期,启动肝细胞增殖,但是TGF- β 1则是肝再生的终止因子,目前KC在肝损伤和修复中的作用尚有争议^[59],其分泌因子对肝再生的调控机制仍不十分清楚,可能在肝再生中起双重作用。

5 结论

众所周知,肝脏具有强大的再生修复能力,损伤因子导致肝损伤后,剩余的肝脏启动修复过程. 肝损伤修复是一个复杂的过程,肝成熟细胞、卵圆细胞、骨髓干细胞等可能分别在不同程度的损伤中起作用,有Wnt、Notch、Hedgehog、NF- κ B等信号通路和TNF- α 、IL-6、TGF- β 、STAT3、MMP、HGF、TWEAK等因子共同参与. 虽然过去已对肝损伤修复过程中的肝细胞增殖、卵圆细胞和干细胞的激活及其信号通路等方面做了大量研究,取得巨大进步,但是仍存在以下问题: (1)干细胞的过度增殖有可能诱发癌变,而调节卵圆细胞和骨髓干细胞定向分化的机制尚不明确; (2)不同修复阶段信号通路不同,多种信号通路重叠起作用,难以明确其具体机制;各种细胞、细胞因子及肝脏微环境之间精确的调控机制尚需进一步研究; (3)不同程度的肝损伤,何种细胞首先开始启动增殖及其终止的调节尚不明确. 这些都有待于进一步深入研究. 如果能明确不同肝损伤修复中各种细胞的作用及调控其增殖分化的具体信号传导通路,将极大地促进临床肝病的细胞治疗。

6 参考文献

- 1 Batailler R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218 [PMID: 15690074]
- 2 Ghanem LY, Nosseir MM, Lotfi AA, Mohamed AS, Ibrahim RA, Hassanein MH, Mansour E, Makhoul MM, Fouad YM, El-Khayat HR. Hematopoietic stem cell mobilization into the peripheral circulation in patients with chronic liver diseases. *J Dig Dis* 2012; 13: 571-578 [PMID: 23107444 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00634.x]
- 3 Diehl AM. Liver regeneration. *Front Biosci* 2002; 7: e301-e314 [PMID: 12086922 DOI: 10.2741/diehl]
- 4 Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66 [PMID: 9082986 DOI: 10.1126/science.276.5309.60]
- 5 Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010; 176: 2-13 [PMID: 20019184 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090675]
- 6 Yamada Y, Webber EM, Kirillova I, Peschon JJ, Fausto N. Analysis of liver regeneration in mice lacking type 1 or type 2 tumor necrosis factor receptor: requirement for type 1 but not type 2 receptor. *Hepatology* 1998; 28: 959-970 [PMID: 9755232 DOI: 10.1002/hep.510280410]
- 7 Wullaert A, van Loo G, Heyninx K, Beyaert R. Hepatic tumor necrosis factor signaling and nuclear factor-kappaB: effects on liver homeostasis and beyond. *Endocr Rev* 2007; 28: 365-386 [PMID: 17431229 DOI: 10.1210/er.2006-0031]
- 8 Obolenskaya M, Schulze-Specking A, Plaumann B, Frenzer K, Freudenberg N, Decker K. Nitric oxide production by cells isolated from regenerating rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 204: 1305-1311 [PMID: 7980609 DOI: 10.1006/bbrc.1994.2605]
- 9 Pinna F, Sahle S, Beuke K, Bissinger M, Tuncay S, D'Alessandro LA, Gauges R, Raue A, Timmer J, Klingmüller U, Schirmacher P, Kummer U, Breuhahn K. A systems biology study on NFκB signaling in primary mouse hepatocytes. *Front Physiol* 2012; 3: 466 [PMID: 23293603 DOI: 10.3389/fphys.2012.00466]
- 10 Kastan MB. Cell cycle. Checking two steps. *Nature* 2001; 410: 766-767 [PMID: 11298430 DOI: 10.1038/35071218]
- 11 Sacilotto N, Espert A, Castillo J, Franco L, López-Rodas G. Epigenetic transcriptional regulation of the growth arrest-specific gene 1 (Gas1) in hepatic cell proliferation at mononucleosomal resolution. *PLoS One* 2011; 6: e23318 [PMID: 21858068 DOI: 10.1371/journal.pone.0023318]
- 12 Lee HO, Davidson JM, Duronio RJ. Endoreplication: polyploidy with purpose. *Genes Dev* 2009; 23: 2461-2477 [PMID: 19884253 DOI: 10.1101/gad.1829209]
- 13 Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control. *FASEB J* 1990; 4: 176-187 [PMID: 2404819]
- 14 Merlen G, Gentric G, Celton-Morizur S, Foretz M, Guidotti JE, Fauveau V, Leclerc J, Viollet B, Desdouets C. AMPKα1 controls hepatocyte proliferation independently of energy balance by regulating Cyclin A2 expression. *J Hepatol* 2013 Sep 5. [Epub ahead of print] [PMID: 24012615 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.08.025]
- 15 Miyaoka Y, Miyajima A. To divide or not to divide: revisiting liver regeneration. *Cell Div* 2013; 8: 8 [PMID: 23786799 DOI: 10.1186/1747-1028-8-8]
- 16 Gentric G, Celton-Morizur S, Desdouets C. Polyploidy and liver proliferation. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 29-34 [PMID: 21778131 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.05.011]
- 17 Strathdee G, Sansom OJ, Sim A, Clarke AR, Brown R. A role for mismatch repair in control of DNA ploidy following DNA damage. *Oncogene* 2001; 20: 1923-1927 [PMID: 11313940 DOI: 10.1038/sj.onc.1204276]
- 18 Enserink JM, Kolodner RD. An overview of Cdk1-controlled targets and processes. *Cell Div* 2010; 5: 11 [PMID: 20465793 DOI: 10.1186/1747-1028-5-11]
- 19 Bloom J, Cross FR. Multiple levels of cyclin specificity in cell-cycle control. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 149-160 [PMID: 17245415 DOI: 10.1038/nrm2105]
- 20 Bissell DM, Wang SS, Jarnagin WR, Roll FJ. Cell-specific expression of transforming growth factor-beta in rat liver. Evidence for autocrine regulation of hepatocyte proliferation. *J Clin Invest* 1995; 96: 447-455 [PMID: 7615817 DOI: 10.1172/JCI118055]
- 21 Chang H, Lau AL, Matzuk MM. Studying TGF-beta superfamily signaling by knockouts and knockins. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 180: 39-46 [PMID: 11451570 DOI: 10.1016/S0303-7207(01)00513-5]
- 22 Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol* 2009; 217: 282-298 [PMID: 18991329 DOI: 10.1002/path.2453]
- 23 Zaret KS, Grompe M. Generation and regeneration of cells of the liver and pancreas. *Science* 2008; 322: 1490-1494 [PMID: 19056973 DOI: 10.1126/science.1161431]
- 24 Tanaka M, Itoh T, Tanimizu N, Miyajima A. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms. *J Biochem* 2011; 149: 231-239 [PMID: 21217146 DOI: 10.1093/jb/mvr001]
- 25 Cantz T, Manns MP, Ott M. Stem cells in liver regeneration and therapy. *Cell Tissue Res* 2008; 331: 271-282 [PMID: 17901986 DOI: 10.1007/s00441-007-0483-6]
- 26 Li Z, Chen J, Li L, Ran JH, Liu J, Gao TX, Guo BY, Li XH, Liu ZH, Liu GJ, Gao YC, Zhang XL. In vitro proliferation and differentiation of hepatic oval cells and their potential capacity for intrahepatic transplantation. *Braz J Med Biol Res* 2013; 46: 681-688 [PMID: 23903688 DOI: 10.1590/1414-431X20132620]
- 27 Fausto N, Campbell JS. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev* 2003; 120: 117-130 [PMID: 12490302 DOI: 10.1016/S0925-4773(02)00338-6]
- 28 Paku S, Schnur J, Nagy P, Thorgerirsson SS. Origin and structural evolution of the early proliferating oval cells in rat liver. *Am J Pathol* 2001; 158: 1313-1323 [PMID: 11290549 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64082-5]
- 29 Nagy P, Kiss A, Schnur J, Thorgerirsson SS. Dexamethasone inhibits the proliferation of hepatocytes and oval cells but not bile duct cells in rat liver. *Hepatology* 1998; 28: 423-429 [PMID: 9696007 DOI: 10.1002/hep.510280220]
- 30 Knight B, Yeoh GC, Husk KL, Ly T, Abraham LJ, Yu C, Rhim JA, Fausto N. Impaired preneoplastic changes and liver tumor formation in tumor necrosis factor receptor type 1 knockout mice. *J Exp Med* 2000; 192: 1809-1818 [PMID: 11120777 DOI: 10.1084/jem.192.12.1809]

■应用要点

纵观这些年对肝损伤修复机制的研究进展,进一步的理解肝细胞、卵圆细胞、骨髓干细胞对肝损伤修复的分子机制,为临床肝病的治疗提供新的思路。同时也发现在精细调节中不足,促使发现新的问题,进一步的解决问题,推动研究的进展。

■同行评价

本文有一定可读性,从各种细胞方面对肝损伤修复的贡献及机制做出了论述,具有一定的意义和概括能力。

- 10.1084/jem.192.12.1809]
- 31 Jakubowski A, Ambrose C, Parr M, Lincecum JM, Wang MZ, Zheng TS, Browning B, Michaelson JS, Baetscher M, Wang B, Bissell DM, Burkly LC. TWEAK induces liver progenitor cell proliferation. *J Clin Invest* 2005; 115: 2330-2340 [PMID: 16110324 DOI: 10.1172/JCI23486]
- 32 Tirnitz-Parker JE, Olynyk JK, Ramm GA. Role of TWEAK in co-regulating liver progenitor cell and fibrogenic responses. *Hepatology* 2013 Aug 26. [Epub ahead of print] [PMID: 24038142 DOI: 10.1002/hep.26701]
- 33 László V, Dezso K, Baghy K, Papp V, Kovalszky I, Sáfrány G, Thorgerirsson SS, Nagy P, Paku S. Triiodothyronine accelerates differentiation of rat liver progenitor cells into hepatocytes. *Histochem Cell Biol* 2008; 130: 1005-1014 [PMID: 18663461 DOI: 10.1007/s00418-008-0482-z]
- 34 陈中, 晏建军, 黄亮, 严以群. 大鼠肝卵圆细胞中matrilin-2的表达及其意义. *中国普通外科杂志* 2010; 19: 61-64
- 35 傅华群, 李学东, 王开阳, 蒋星星, 巢映辉. 连接蛋白/缝隙连接细胞间通讯对大鼠肝卵圆细胞增殖调控作用. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 5072-5075
- 36 Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, Petersen BE. SDF-1alpha/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats. *Cloning Stem Cells* 2002; 4: 339-351 [PMID: 12626097 DOI: 10.1089/153623002321025014]
- 37 Zhang Y, Li XM, Zhang FK, Wang BE. Activation of canonical Wnt signaling pathway promotes proliferation and self-renewal of rat hepatic oval cell line WB-F344 in vitro. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6673-6680 [PMID: 19034970 DOI: 10.3748/wjg.14.6673]
- 38 Apte U, Thompson MD, Cui S, Liu B, Cieply B, Monga SP. Wnt/beta-catenin signaling mediates oval cell response in rodents. *Hepatology* 2008; 47: 288-295 [PMID: 17929301]
- 39 姚树坤, 杨志云, 常丽丽. 卵圆细胞对肝损伤的修复作用及机制. *基础医学与临床* 2008; 28: 61-65
- 40 Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor kappaB activation. *Cell Growth Differ* 1999; 10: 819-828 [PMID: 10616907]
- 41 Sánchez A, Factor VM, Schroeder IS, Nagy P, Thorgerirsson SS. Activation of NF-kappaB and STAT3 in rat oval cells during 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Hepatology* 2004; 39: 376-385 [PMID: 14767990 DOI: 10.1002/hep.20040]
- 42 Oh SH, Hatch HM, Petersen BE. Hepatic oval 'stem' cell in liver regeneration. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13: 405-409 [PMID: 12468240 DOI: 10.1016/S1084952102001271]
- 43 Li T, Zhu J, Ma K, Liu N, Feng K, Li X, Wang S, Bie P. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes liver regeneration after portal vein embolization in cirrhotic rats. *J Surg Res* 2013; 184: 1161-1173 [PMID: 23809154 DOI: 10.1016/j.jss.2013.04.054]
- 44 Chang YJ, Liu JW, Lin PC, Sun LY, Peng CW, Luo GH, Chen TM, Lee RP, Lin SZ, Harn HJ, Chiou TW. Mesenchymal stem cells facilitate recovery from chemically induced liver damage and decrease liver fibrosis. *Life Sci* 2009; 85: 517-525 [PMID: 19686763 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.08.003]
- 45 De Silvestro G, Vicarioto M, Donadel C, Menegazzo M, Marson P, Corsini A. Mobilization of peripheral blood hematopoietic stem cells following liver resection surgery. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 805-810 [PMID: 15143921]
- 46 Gehling UM, Willems M, Dandri M, Petersen J, Berna M, Thill M, Wulf T, Müller L, Pollok JM, Schlagner K, Faltz C, Hossfeld DK, Rogiers X. Partial hepatectomy induces mobilization of a unique population of haematopoietic progenitor cells in human healthy liver donors. *J Hepatol* 2005; 43: 845-853 [PMID: 16139387 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.05.022]
- 47 Lemoli RM, Catani L, Talarico S, Loggi E, Gramenzi A, Baccarani U, Fogli M, Grazi GL, Aluigi M, Marzocchi G, Bernardi M, Pinna A, Bresadola F, Baccarani M, Andreone P. Mobilization of bone marrow-derived hematopoietic and endothelial stem cells after orthotopic liver transplantation and liver resection. *Stem Cells* 2006; 24: 2817-2825 [PMID: 16931769 DOI: 10.1634/stemcells.2006-0333]
- 48 Liu F, Pan XB, Chen GD, Jiang D, Cong X, Fei R, Chen HS, Wei L. Hematopoietic stem cell mobilization after rat partial orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 1603-1609 [PMID: 16797365 DOI: 10.1016/j.transproceed.2006.02.121]
- 49 Boeykens N, Ponsaerts P, Van der Linden A, Berne-man Z, Ysebaert D, De Greef K. Injury-dependent retention of intraportally administered mesenchymal stromal cells following partial hepatectomy of steatotic liver does not lead to improved liver recovery. *PLoS One* 2013; 8: e69092 [PMID: 23874878 DOI: 10.1371/journal.pone.0069092]
- 50 Menegazzo M, Bagatella P, Marson P, Donadel C, De Silvestro G, Corsini A. Reduced mobilisation of hematopoietic stem cells after hepatic resection for malignant liver disease. *Pathol Oncol Res* 2008; 14: 381-385 [PMID: 18752047 DOI: 10.1007/s12253-008-9091-3]
- 51 Xie G, Karaca G, Swiderska-Syn M, Michelotti GA, Krüger L, Chen Y, Premont RT, Choi SS, Diehl AM. Cross-talk between Notch and Hedgehog regulates hepatic stellate cell fate in mice. *Hepatology* 2013 May 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23703657 DOI: 10.1002/hep.26511]
- 52 Wang S, Lee Y, Kim J, Hyun J, Lee K, Kim Y, Jung Y. Potential role of hedgehog pathway in liver response to radiation. *PLoS One* 2013; 8: e74141 [PMID: 24066108 DOI: 10.1371/journal.pone.0074141]
- 53 Schachtrup C, Le Moan N, Passino MA, Akassoglou K. Hepatic stellate cells and astrocytes: Stars of scar formation and tissue repair. *Cell Cycle* 2011; 10: 1764-1771 [PMID: 21555919 DOI: 10.4161/cc.10.11.15828]
- 54 Passino MA, Adams RA, Sikorski SL, Akassoglou K. Regulation of hepatic stellate cell differentiation by the neurotrophin receptor p75NTR. *Science* 2007; 315: 1853-1856 [PMID: 17395831 DOI: 10.1126/science.1137603]
- 55 Geerts A. The simple truth is seldom true and never simple: dual role for p75(NTR) in transdifferentiation and cell death of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2007; 46: 600-601 [PMID: 17661415 DOI: 10.1002/hep.21861]
- 56 Ramadori G, Armbrust T. Cytokines in the liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 777-784 [PMID: 11511111]

- 11474306 DOI: 10.1097/00042737-200107000-00004]
- 57 You Q, Holt M, Yin H, Li G, Hu CJ, Ju C. Role of hepatic resident and infiltrating macrophages in liver repair after acute injury. *Biochem Pharmacol* 2013; 86: 836-843 [PMID: 23876342 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.07.006]
- 58 Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *J Hepatol* 2012; 57: 692-694 [PMID: 22613006 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.016]
- 59 Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Compr Physiol* 2013; 3: 785-797 [PMID: 23720329 DOI: 10.1002/cphy.c120026]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

纤维化肝脏中肌成纤维细胞的来源

周亚宁, 慕永平, 刘平

■背景资料

肝纤维化是多种慢性肝病的共同结局, 包括病毒性肝炎, 自身免疫性肝病, 酒精性和非酒精性脂肪性肝病等。其发病机制的研究对预后和治疗都有非常重要的意义。

周亚宁, 慕永平, 刘平, 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所 上海市 201203

周亚宁, 上海中医药大学博士生, 主要从事中医药防治慢性肝病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81273728

作者贡献分布: 本文综述由周亚宁与慕永平共同撰写完成; 刘平审核。

通讯作者: 刘平, 教授, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所。

liuliver@vip.sina.com

电话: 021-51322444

收稿日期: 2013-08-01 修回日期: 2013-08-19

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-11-08

Sources of myofibroblasts in liver fibrosis

Ya-Ning Zhou, Yong-Ping Mu, Ping Liu

Ya-Ning Zhou, Yong-Ping Mu, Ping Liu, Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81273728

Correspondence to: Ping Liu, Professor, Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. liuliver@vip.sina.com

Received: 2013-08-01 Revised: 2013-08-19

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-11-08

Abstract

Myofibroblasts (MFBs) promote the accumulation of the extracellular matrix (ECM) by synthesis and secretion of collagen in the liver, leading to liver fibrosis. Activated hepatic stellate cells (HSC) are the major source of MFBs, and also play a key role in the development of liver fibrosis. Many studies indicate that hepatocytes and bile duct cells may undergo epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) to MFBs; however, contrary conclusions have also been drawn in recent studies. In addition, other sources of MFBs have also been found, including portal fibroblasts, bone marrow cells, and hepatic progenitor cells. In this article we will review the sources of MFBs in liver fibrosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Myofibroblasts

Zhou YN, Mu YP, Liu P. Sources of myofibroblasts in liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3376-3382 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3376.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3376>

摘要

肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFBs)通过合成并分泌胶原促进肝脏细胞外基质(extracellular matrix)的累积, 导致肝纤维化的发生、发展, 其来源广泛。肝损伤时肝纤维化发展中的关键细胞-活化的肝星状细胞(hepatic stellate cells)是MFBs的主要来源; 更有数据表明肝细胞和胆管上皮细胞在特定条件刺激下可以通过上皮-间质转分化(epithelial-to-mesenchymal transition)过程转变为MFBs, 但也有不少研究否定了该结论, 因此也成为目前的研究热点之一; 越来越多的研究表明, 来源细胞包括汇管区成纤维细胞、骨髓细胞、肝内祖细胞等。因此本文就MFBs来源的研究进展做一综述。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 肌成纤维细胞

核心提示: 肌成纤维细胞通过合成胶原促进肝纤维化的发展。活化的肝星状细胞是主要来源; 肝细胞和胆管上皮细胞是否可以通过上皮-间质转分化成为肌成纤维细胞仍存在争议; 其他来源包括汇管区成纤维细胞、骨髓细胞、肝祖细胞等。

周亚宁, 慕永平, 刘平. 纤维化肝脏中肌成纤维细胞的来源. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3376-3382 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3376.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3376>

0 引言

肝纤维化是肝组织损害后的一种可逆的损伤修复反应, 以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度沉积为特点。如果慢性炎症和ECM

■同行评议者

郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

沉积持续存在, 会导致肝实质结构逐渐被破坏, 由瘢痕组织代替, 从而形成肝硬化, 预后较差^[1]. 肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFBs)是典型的调节组织损伤修复的间质细胞, 通过合成胶原促进ECM累积, 表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA), 具有收缩性^[2]. 肝纤维化的持续存在主要是由肝脏MFBs维持^[3]. MFBs是肝纤维化发生发展的重要细胞, 对其来源的探讨, 有助于阐明肝纤维化的发生发展机制, 也为肝纤维化治疗提供依据, 本文就MFBs来源的相关研究进展做一综述.

1 肝星状细胞

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化形成的关键细胞, 也是目前研究最多的致纤维化细胞. 肝损伤过程中的多种病理反应因素, 包括氧化应激、缺氧、炎症和免疫反应、细胞凋亡、脂肪变性等, 均可使HSC活化, 获得肌成纤维细胞特征, 表达 α -SMA, 合成大量ECM, 并且具有增殖、收缩、迁移以及促炎症反应等特点^[4]. HSC活化分为启动和持续两个阶段. 启动阶段主要是损伤的实质细胞通过旁分泌作用激活HSC, 持续刺激导致进入持续阶段, HSC的活化在这一阶段则是由旁分泌和自分泌共同调节^[5].

转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)可有效促使HSC活化为MFBs. 经典TGF- β 1信号转导首先作用于TGF- β 1受体(transforming growth factor- β receptor, T β R), 致其活化, 使下游效应器Smad2/3磷酸化(pSmad2/3), 后者与Smad4形成异寡聚复合体, 后转位至细胞核, 激活特异性靶基因的转录^[6]; Smad7是TGF- β 1信号通路的关键抑制分子, 通过负反馈环发挥其对TGF- β 1信号转导的抑制作用^[7,8]. 因此, 提高Smad7的表达, 有效抑制TGF- β 1/Smad信号转导对肝纤维化的治疗至关重要. 另外, TGF- β 1还可激活MAPK信号通路, 包括细胞外信号调节激酶(ERK)、p38 MAPK、c-Jun N-端激酶(JNK), 他们可以通过“串扰”(crosstalk)的方式对TGF- β 1/Smad信号转导产生极大的影响^[9]. 血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)是HSC增殖的关键刺激源. PDGF与其受体PDGFR(platelet derived growth factor receptor)结合, 通过Ras激活下游Raf-1、MEK和ERK, 还可与磷脂酰肌醇(-3)激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)结合, 诱导HSC有丝分裂和趋化^[10,11]. PDGF还可促进HSC的 Na^+/H^+ 交换, 继而改

变细胞内pH值^[12], 抑制 Na^+/H^+ 交换可以干扰细胞骨架重组的关键下游信号, 抑制PDGF诱导的细胞有丝分裂^[9,13].

2 汇管区成纤维细胞

慢性肝损伤时, 位于胆管和血管周围结缔组织中的成纤维细胞(fibroblast)在TGF- β 1/Smad作用下可以转化为 α -SMA(+)的MFBs^[14-16]. 汇管区成纤维细胞的促纤维化作用在胆汁淤积性纤维化中起主要作用^[17], 胆汁淤积性肝损伤时, 仅有少数ECM来源于活化的HSC^[14,18]. 胆管细胞受损后表达TGF- β 2, 释放PDGF-BB亚型、IL-6和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemo-attractant protein 1, MCP-1)等, 而这些生长因子和促炎因子都可促进成纤维细胞转化为MFBs^[19]. 除此之外, 汇管区MFBs在其他以桥接样纤维化为特点的慢性肝病进展中也有重要作用, 包括病毒性的和酒精性的肝病^[20,21]. 由此可见, 汇管区成纤维细胞在不同病因导致的慢性肝病中都发挥着重要作用, 然而其被激活的程度则可能是与胆管上皮损伤程度相关. 汇管区成纤维细胞分离方法的建立为进一步深入研究提供了方法学基础^[22].

3 骨髓细胞

近年来, 干细胞移植成为肝纤维化治疗研究的热点, 然而越来越多的证据表明肝纤维化进程中的部分MFBs来源于骨髓干细胞, 这一点不利于干细胞治疗的应用. 研究证实, CCl_4 处理的骨髓移植小鼠肝脏中, 30% α -SMA(+)的MFBs来源于骨髓^[23]. 另一项类似的研究也发现纤维化肝脏中约70%合成I型胶原(collagen I)的MFBs来自骨髓^[24]; 骨髓移植后肝硬化和肝移植后肝纤维化患者肝脏中6.8%-22.2% α -SMA(+)的MFBs由骨髓细胞提供^[25]. 事实上肝纤维化早期即可发现骨髓来源的MFBs, 并且随着肝损伤的加重, 肝脏中骨髓衍生MFBs逐渐增多^[26,27]. 上述数据显示骨髓来源的MFBs从6.8%到70%不等, 相差很大, 这有可能是由于损伤程度不同而造成的差异.

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)可能是MFBs的来源之一. 将BMSCs移植入经部分肝切除和倒千里光碱(retrorsine)处理过的小鼠, 持续存在于肝组织中的BMSCs可以表达波形蛋白(vimentin)和 α -SMA, 且其所在位置有胶原沉积^[28]. 体外实验发现, BMSCs可以应答多种生长因子发生迁

■ 研发前沿

肝星状细胞活化被认为是肝纤维化发病过程中的关键环节, 随着研究的深入, 发现了其他可以分泌胶原、具有肌成纤维细胞特点的细胞. 但这些肌成纤维细胞的来源及促纤维化作用仍存在争议.

■相关报道

Lee等在2012年发表的“New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis”探讨了上皮间质转分化在多种组织纤维化中的作用,包括肺脏、肾脏、肝脏、心脏等。多领域的研究方法和研究进展值得我们学习和借鉴。

移,如PDGF^[29]、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)^[30]、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)^[31]和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)^[32]等。另外有实验证实BMSCs归巢至损伤的肝脏,可能还与鞘氨醇-1-磷酸盐(sphingosine 1-phosphate, S1P)有关^[33],肝损伤时,肝组织和血循环中的S1P增加,而骨髓中的S1P保持不变,这种梯度差促进肝组织募集骨髓细胞,这一过程中,S1P受体(S1P3/S1P2)是关键介质,阻断S1P3可以抑制纤维化进展^[34];而S1P2的活化可以抑制BMSCs的迁移^[35]。

另外,骨髓中包含一类CD45(+)collagen I (+)的纤维细胞(fibrocytes-like cells),有人发现胆管结扎(bile duct ligation, BDL)小鼠的肝脏中存在这类细胞,经TGF- β 刺激后可转化为 α -SMA(+)desmin(+)有合成胶原能力的MFBs,促进纤维化发展^[36]。在硬化性胆管炎模型小鼠肝脏中发现了类似的CD34(+)desmin(+)纤维细胞,能够表达collagen I,并且在体外实验中得到验证^[37]。纤维细胞的募集过程受到趋化因子受体(chemokine receptor, CCR)1和CCR2调节,CCR1^{-/-}和CCR2^{-/-}小鼠纤维细胞迁移分别减少25%和50%;TGF- β 和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)也可以诱导骨髓释放CD45(+)collagen I (+)纤维细胞,迁移至肝脏和脾脏;此外,骨髓纤维细胞的迁移可能还与年龄有关,老年小鼠在没有损伤和应激的情况下,也可发生骨髓纤维细胞的迁移^[38]。虽然体内外实验均发现骨髓纤维细胞可以分化为MFBs,但减少纤维细胞的迁移对肝脏纤维化程度并没有影响^[34]。

然而有研究认为骨髓细胞并不会分化为MFBs,骨髓细胞移植小鼠肝脏中出现的大量CD45(+)细胞是由于炎性细胞浸润,这些炎性细胞促进了HSC的活化^[39]。而且,某些骨髓细胞亚群移植后能够取得良好效果,并已应用于临床^[40,41]。上述差异可能与细胞亚群不同有关。骨髓细胞移植有可能成为肝细胞再生的有效手段之一,在治疗肝硬化方面具有潜在优势,已成为目前的研究热点之一。但骨髓细胞分化的多向性,特别是在肝硬化病理状态下分化为MFBs,逐渐成为治疗肝纤维化的障碍。如何诱导骨髓细胞向有利的方向分化是研究的关键。某些中药可有效改善肝硬化病理环境,促进肝细胞再生,所以骨髓干细胞移植联合中药治疗具有良好的研究前景。

4 上皮-间质转分化

上皮-间质转分化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)是指细胞逐渐失去上皮细胞特性,获得间质细胞特征的细胞转分化过程^[42]。上皮和间质表型转换是胚胎发育的关键,也是成熟细胞应答损伤的关键,这一过程为损伤组织的修复提供MFBs^[43]。有研究证明肾纤维化和肺纤维化中均存在EMT现象^[44,45]。然而肝纤维化进展中是否存在EMT仍存在一些争议。

首先,胆管细胞可能通过EMT作用为肝纤维化进展提供MFBs。BDL肝纤维化小鼠中发现了 α -SMA和细胞角蛋白(cytokeratin, CK)19(胆管细胞标记)共染的胆管上皮细胞,且细胞周围存在collagen I;体外培养的人胆管上皮细胞经TGF- β 刺激后可表达 α -SMA和纤连蛋白,而CK19表达下降^[46]。胆道闭锁和其他一些胆管增生性疾病的患者肝组织中,胆管上皮细胞共表达CK19和多种间质细胞标记物,包括FSP1(fibroblast-specific protein 1)、HSP47(heat shock protein 47)、vimentin和转录因子Snail^[47]。另一个以CK7作为胆管细胞标记的类似实验发现,胆管闭锁患者胆管上皮细胞高表达 α -SMA和FSP1,同时具备成纤维细胞样形态学表现^[48]。其次,肝细胞也可能成为是肝纤维化中MFBs的一个来源。Kaimori等^[49]用原代小鼠肝细胞和小鼠肝细胞株同时证实了肝细胞可以合成collagen I。Zeisberg等^[50]发现CCl₄诱导的肝纤维化模型中Alb(+)(肝细胞标记)的肝细胞可以转分化为Alb(-) FSP1(+) α -SMA(-)的成纤维细胞;高达45%的成纤维细胞来源于肝细胞,高达60%的FSP1(+)细胞同时表达Alb,后者可能是肝细胞EMT过程的中间阶段,提示纤维化肝脏中相当数量的FSP1(+) α -SMA(-)的成纤维细胞来自肝细胞。另外,在肺、心、肾纤维化发病中发现一种新的细胞分化类型,内皮-间质转分化(endothelial to mesenchymal transition, EndoMT),也可能是MFBs的一个来源,由TGF诱导发生^[51]。然而肝纤维化中是否存在EndoMT,目前尚无定论。

TGF- β 、EGF、IGF-II以及成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)-2等细胞因子均可诱导EMT的发生,其中研究较为深入的是TGF- β /Smad信号通路^[52,53]。沉默Smad4或高表达Smad7使TGF- β 信号下调,EMT减少,间质胶原聚集减少^[54]。只有逃避了促凋亡作用的肝细胞才可以被TGF- β 刺激发生EMT,这些存活的肝

细胞由MAPK非依赖转向MAPK依赖的细胞存活途径^[55], 在TGF- β 的刺激下过量表达Snail, 获得了抵制程序性细胞死亡的能力, 因此Kaimori等^[49]认为肝细胞EMT取决于凋亡和存活机制. 缺氧也可诱导肝细胞发生EMT, Copple等^[56]发现置于缺氧环境中的原代肝细胞表达 α -SMA、vimentin、Snai和FSP1增加; 而缺氧诱导因子(hypoxia inducible factors, HIFs)-1 β 缺失的肝细胞在低氧环境中不发生EMT, 同样HIF-1 α 缺失的BDL小鼠FSP1表达并未增多, 提示HIF在这一过程中发挥重要作用.

虽然有较多实验证明胆管上皮细胞和肝细胞在特定环境下转分化为MFBs, 但也有研究得出相反的结论, 即在BDL、CCl₄和3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC)3种动物模型中, 肝细胞和胆管上皮细胞均未发现表达间质标记FSP1、vimentin、 α -SMA以及collagen I前体等^[57,58]. Taura等^[59]发现, 虽然正常小鼠原代肝细胞在体外经TGF- β 刺激可以产生collagen I, 具有MFBs形态, 但是并没有表达其他间质细胞的标记物; 而CCl₄处理的小鼠原代肝细胞, 不论纤维化等级如何, 都没有发现 α -SMA, FSP1或vimentin, 也不产生collagen I, 因此认为肝细胞EMT是体外培养和TGF- β 联合作用的人为产物. Rygiel等^[60]也给出了类似的实验证据, 人原代肝内胆管上皮细胞经TGF- β 诱导后具备成纤维细胞表型, 表达FSP1和 α -SMA显著增加, 并且具有迁移性, 可以认为其转分化为成熟的MFBs; 但是原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及肝内胆管结石^[61]患者肝组织活检并未发现胆管上皮细胞表达 α -SMA, 然而Rygiel等并未因此否认EMT, 而是认为原代细胞和活检组织的不一致可能是因为胆管上皮细胞在表达 α -SMA之前发生了迁移, 证据是汇管区纤维化处有 α -SMA表达.

尽管某些实验否认肝纤维化进展中存在EMT来源的MFBs, 但多数实验观察到了这一现象, 体内外结果的矛盾需要优化实验条件和扩大临床样本来明确. 胆管上皮细胞和肝细胞来源的MFBs对ECM合成的贡献度也需要进一步的研究.

5 肝内祖细胞

肝内祖细胞属于肝脏干细胞, 具有分化潜能, 有研究发现这类细胞群也可能成为MFBs的来源.

最近一项临床研究结果显示, 肝祖细胞的活化促进了非酒精性脂肪性肝病的进展^[62]. 猕猴肝脏上皮祖细胞(rhesus monkey liver epithelial progenitor cells, mLEPCs)经TGF- β 刺激后, 转变为成纤维细胞, 失去上皮细胞标记物CK8及相关基因(*E-Cadherin*、*ZO-1*、*CK18*、*occludin*), 表达间质细胞相关基因(*snail*、*plasminogen activator inhibitor 1*、*collagen I*); 60%以上的成纤维细胞样细胞表达 α -SMA、vimentin和N-Cadherin^[63]. 另外, 肝脏卵圆细胞是一种肝内祖细胞群, 原代大鼠Thy-1.1(+)肝卵圆细胞可以同时表达上皮和间质细胞标记物, 分化为具有MFBs表型的细胞^[64]. 此外, 有人发现了一个表达祖细胞标记CD133的HSC亚群, 说明HSC有可能来源于成熟肝脏的肝祖细胞, 对于这一发现也有人认为HSC可能是肝卵圆细胞转分化过程中的过渡细胞^[65,66]. 但是最近有研究利用二乙酰氨基苄(AAF)/CCl₄模型证实, 肝祖细胞没有分化为MFBs, 而是通过表达TGF- β 促进HSC的聚集^[67]. 因此肝内祖细胞与MFBs的关系仍需进一步研究, 并且肝内祖细胞具有干细胞特性, 其存在的问题与骨髓干细胞类似, 抑制肝内祖细胞向MFBs分化, 促进其向肝实质细胞分化是我们需要的方向.

6 其他

CD14(+)的外周血单核细胞亚群能分化的纤维细胞, 在多种器官中参与损伤修复^[68]. 肺纤维化和肾纤维化过程均有其参与, 他的分化过程受到单核-刺激因子(colony-stimulating factor, CSF), MCP-1以及其他趋化因子、生长因子、分化因子的影响; 虽然这些细胞因子可以由活化的HSC和其他一些肝内细胞分泌, 但外周血单核细胞在肝纤维化中的作用尚未得到证实^[52].

肝脏中的大量巨噬细胞(即Kupffer细胞), 在肝纤维化中发挥双向作用, 纤维化进展期, 促进其发展, 而在纤维化消退期, 他又能促进纤维化消退^[5]. 最近的一项研究在肝脏巨噬细胞的一个亚群中发现了间质细胞标记FSP1^[69], 这可能是Kupffer细胞发挥其促纤维化作用的另一个方面.

7 结论

肝纤维化时, MFBs合成大量ECM, 促进纤维化进展, 其主要来源是活化的HSC, 另外越来越多的MFBs的其他来源逐渐被发现, 包括汇管区成纤维细胞、骨髓细胞、肝细胞和胆管细胞EMT

■创新盘点

全面系统综述了近年来该领域的研究, 内容不但包括基础性的实验研究, 还涉及到多项临床研究, 客观评述了某些存在争议的内容, 对研究热点进行了深入的探讨.

■应用要点

这些不同来源的肌成纤维细胞在纤维化进程中的作用不容忽视,并有可能成为抗肝纤维化的治疗靶点。其来源的广泛性及对肝纤维化进程的影响程度仍需进一步研究。

以及肝内祖细胞等。这些不同来源的细胞在纤维化进程中的作用不容忽视,并有可能成为抗肝纤维化的治疗靶点。但是另一方面,MFBs来源的广泛性仍存在争议,胆管上皮细胞和肝细胞是否可以通过EMT促进纤维化,以及除HSC外的其他来源的MFBs对肝纤维化进程的影响程度仍需要进一步研究。

8 参考文献

- Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246]
- Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Prunotto M, Desmoulière A, Varga J, De Wever O, Mareel M, Gabbiani G. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling. *Am J Pathol* 2012; 180: 1340-1355 [PMID: 22387320 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.004]
- Parola M, Marra F, Pinzani M. Myofibroblast - like cells and liver fibrogenesis: Emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 58-66 [PMID: 18022682]
- Guo J, Friedman SL. Hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2007; 27: 413-426 [PMID: 17979077]
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
- Matsuzaki K. Smad phosphoisoform signals in acute and chronic liver injury: similarities and differences between epithelial and mesenchymal cells. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 225-243 [PMID: 21626291 DOI: 10.1007/s00441-011-1178-6]
- Nakao A, Afrakhte M, Morén A, Nakayama T, Christian JL, Heuchel R, Itoh S, Kawabata M, Heldin NE, Heldin CH, ten Dijke P. Identification of Smad7, a TGFbeta-inducible antagonist of TGF-beta signalling. *Nature* 1997; 389: 631-635 [PMID: 9335507]
- Itoh S, ten Dijke P. Negative regulation of TGF-beta receptor/Smad signal transduction. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19: 176-184 [PMID: 17317136]
- Benedetti A, Di Sario A, Casini A, Ridolfi F, Bendia E, Pigini P, Tonnini C, D'Ambrosio L, Feliciangeli G, Macarri G, Svegliati-Baroni G. Inhibition of the NA(+)/H(+) exchanger reduces rat hepatic stellate cell activity and liver fibrosis: an in vitro and in vivo study. *Gastroenterology* 2001; 120: 545-556 [PMID: 11159895]
- Marra F, Arrighi MC, Fazi M, Caligiuri A, Pinzani M, Romanelli RG, Efsen E, Laffi G, Gentilini P. Extracellular signal-regulated kinase activation differentially regulates platelet-derived growth factor's actions in hepatic stellate cells, and is induced by in vivo liver injury in the rat. *Hepatology* 1999; 30: 951-958 [PMID: 10498647]
- Marra F, Gentilini A, Pinzani M, Choudhury GG, Parola M, Herbst H, Dianzani MU, Laffi G, Abboud HE, Gentilini P. Phosphatidylinositol 3-kinase is required for platelet-derived growth factor's actions on hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1997; 112: 1297-1306 [PMID: 9098016]
- Di Sario A, Svegliati Baroni G, Bendia E, Ridolfi F, Saccomanno S, Ugili L, Trozzi L, Marziani M, Jezequel AM, Macarri G, Benedetti A. Intracellular pH regulation and Na⁺/H⁺ exchange activity in human hepatic stellate cells: effect of platelet-derived growth factor, insulin-like growth factor 1 and insulin. *J Hepatol* 2001; 34: 378-385 [PMID: 11322198]
- Caligiuri A, De Franco RM, Romanelli RG, Gentilini A, Meucci M, Failli P, Mazzetti L, Rombouts K, Geerts A, Vanasia M, Gentilini P, Marra F, Pinzani M. Antifibrogenic effects of canrenone, an antialdosterone drug, on human hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 504-520 [PMID: 12557155]
- Beaussier M, Wendum D, Schiffer E, Dumont S, Rey C, Lienhart A, Housset C. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries. *Lab Invest* 2007; 87: 292-303 [PMID: 17260005]
- Matsuura I, Chiang KN, Lai CY, He D, Wang G, Ramkumar R, Uchida T, Ryo A, Lu K, Liu F. Pin1 promotes transforming growth factor-beta-induced migration and invasion. *J Biol Chem* 2010; 285: 1754-1764 [PMID: 19920136]
- Matsuzaki K, Kitano C, Murata M, Sekimoto G, Yoshida K, Uemura Y, Seki T, Taketani S, Fujisawa J, Okazaki K. Smad2 and Smad3 phosphorylated at both linker and COOH-terminal regions transmit malignant TGF-beta signal in later stages of human colorectal cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5321-5330 [PMID: 19531654]
- Dranoff JA, Wells RG. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis. *Hepatology* 2010; 51: 1438-1444 [PMID: 20209607 DOI: 10.1002/hep]
- Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest* 2004; 84: 153-159 [PMID: 14688800]
- Forbes SJ, Parola M. Liver fibrogenic cells. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 207-217 [PMID: 21497739]
- Michalak S, Rousselet MC, Bedossa P, Pilette C, Chappard D, Oberti F, Gallois Y, Calès P. Respective roles of porto-septal fibrosis and centrilobular fibrosis in alcoholic liver disease. *J Pathol* 2003; 201: 55-62 [PMID: 12950017]
- Clouston AD, Powell EE, Walsh MJ, Richardson MM, Demetris AJ, Jonsson JR. Fibrosis correlates with a ductular reaction in hepatitis C: roles of impaired replication, progenitor cells and steatosis. *Hepatology* 2005; 41: 809-818 [PMID: 15793848]
- Wen JW, Olsen AL, Perepelyuk M, Wells RG. Isolation of rat portal fibroblasts by in situ liver perfusion. *J Vis Exp* 2012; (64): 3669 [PMID: 22781701 DOI: 10.3791/3669]
- Baba S, Fujii H, Hirose T, Yasuchika K, Azuma H, Hoppo T, Naito M, Machimoto T, Ikai I. Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J Hepatol* 2004; 40: 255-260 [PMID: 14739096]
- Russo FP, Alison MR, Bigger BW, Amofah E, Florou A, Amin F, Bou-Gharios G, Jeffery R, Iredale JP, Forbes SJ. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1807-1821 [PMID: 16697743]
- Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, Alison MR. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 955-963 [PMID: 15057733]

- 26 Asawa S, Saito T, Satoh A, Ohtake K, Tsuchiya T, Okada H, Neilson EG, Gotoh M. Participation of bone marrow cells in biliary fibrosis after bile duct ligation. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2001-2008 [PMID: 17914983]
- 27 Fujimiya T, Liu J, Kojima H, Shirafuji S, Kimura H, Fujimiya M. Pathological roles of bone marrow-derived stellate cells in a mouse model of alcohol-induced fatty liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G451-G460 [PMID: 19608736 DOI: 10.1152/ajpgi.00055.2009]
- 28 Baertschiger RM, Serre-Beinier V, Morel P, Bosco D, Peyrou M, Clément S, Sgroi A, Kaelin A, Buhler LH, Gonelle-Gispert C. Fibrogenic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells in injured liver. *PLoS One* 2009; 4: e6657 [PMID: 19684854 DOI: 10.1371/journal.pone.0006657]
- 29 Fiedler J, Röderer G, Günther KP, Brenner RE. BMP-2, BMP-4, and PDGF-bb stimulate chemotactic migration of primary human mesenchymal progenitor cells. *J Cell Biochem* 2002; 87: 305-312 [PMID: 12397612]
- 30 Ponte AL, Marais E, Gallay N, Langonné A, Delorme B, Hérault O, Charbord P, Domenech J. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* 2007; 25: 1737-1745 [PMID: 17395768]
- 31 Tamama K, Fan VH, Griffith LG, Blair HC, Wells A. Epidermal growth factor as a candidate for ex vivo expansion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24: 686-695 [PMID: 16150920]
- 32 Forte G, Minieri M, Cossa P, Antenucci D, Sala M, Gnocchi V, Fiaccavento R, Carotenuto F, De Vito P, Baldini FM, Prat M, Di Nardo P. Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells* 2006; 24: 23-33 [PMID: 16100005]
- 33 Takuwa Y, Ikeda H, Okamoto Y, Takuwa N, Yoshioka K. Sphingosine-1-phosphate as a mediator involved in development of fibrotic diseases. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 185-192 [PMID: 22735357 DOI: 10.1016/j.bbalip.2012.06.008]
- 34 Li C, Kong Y, Wang H, Wang S, Yu H, Liu X, Yang L, Jiang X, Li L, Li L. Homing of bone marrow mesenchymal stem cells mediated by sphingosine 1-phosphate contributes to liver fibrosis. *J Hepatol* 2009; 50: 1174-1183 [PMID: 19398237 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.01.028]
- 35 Okamoto H, Takuwa N, Yokomizo T, Sugimoto N, Sakurada S, Shigematsu H, Takuwa Y. Inhibitory regulation of Rac activation, membrane ruffling, and cell migration by the G protein-coupled sphingosine-1-phosphate receptor EDG5 but not EDG1 or EDG3. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 9247-9261 [PMID: 11094076]
- 36 Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, Brenner DA. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol* 2006; 45: 429-438 [PMID: 16846660]
- 37 Roderfeld M, Rath T, Voswinckel R, Dierkes C, Dietrich H, Zahner D, Graf J, Roeb E. Bone marrow transplantation demonstrates medullar origin of CD34+ fibrocytes and ameliorates hepatic fibrosis in Abcb4-/- mice. *Hepatology* 2010; 51: 267-276 [PMID: 19827165]
- 38 Scholten D, Reichart D, Paik YH, Lindert J, Bhat-tacharya J, Glass CK, Brenner DA, Kisseleva T. Migration of fibrocytes in fibrogenic liver injury. *Am J Pathol* 2011; 179: 189-198 [PMID: 21703401 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.049]
- 39 Paredes BD, Faccioli LA, Quintanilha LF, Asensi KD, do Valle CZ, Canary PC, Takiya CM, de Carvalho AC, Goldenberg RC. Bone marrow progenitor cells do not contribute to liver fibrogenic cells. *World J Hepatol* 2012; 4: 274-283 [PMID: 23293712]
- 40 Thomas JA, Pope C, Wojtacha D, Robson AJ, Gordon-Walker TT, Hartland S, Ramachandran P, Van Deemter M, Hume DA, Iredale JP, Forbes SJ. Macrophage therapy for murine liver fibrosis recruits host effector cells improving fibrosis, regeneration, and function. *Hepatology* 2011; 53: 2003-2015 [PMID: 21433043 DOI: 10.1002/hep.24315]
- 41 Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828 [PMID: 21608000 DOI: 10.1002/hep.24434]
- 42 Choi SS, Diehl AM. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* 2009; 50: 2007-2013 [PMID: 19824076 DOI: 10.1002/hep.23196]
- 43 Lee K, Nelson CM. New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012; 294: 171-221 [PMID: 22364874 DOI: 10.1016/B978-0-12-394305-7.00004-5]
- 44 Chapman HA. Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis. *Annu Rev Physiol* 2011; 73: 413-435 [PMID: 21054168]
- 45 Quaggin SE, Kapus A. Scar wars: mapping the fate of epithelial-mesenchymal-myofibroblast transition. *Kidney Int* 2011; 80: 41-50 [PMID: 21430641 DOI: 10.1038/ki.2011.77]
- 46 Xia JL, Dai C, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor attenuates liver fibrosis induced by bile duct ligation. *Am J Pathol* 2006; 168: 1500-1512 [PMID: 16651617]
- 47 Díaz R, Kim JW, Hui JJ, Li Z, Swain GP, Fong KS, Csiszar K, Russo PA, Rand EB, Furth EE, Wells RG. Evidence for the epithelial to mesenchymal transition in biliary atresia fibrosis. *Hum Pathol* 2008; 39: 102-115 [PMID: 17900655]
- 48 Deng YH, Pu CL, Li YC, Zhu J, Xiang C, Zhang MM, Guo CB. Analysis of biliary epithelial-mesenchymal transition in portal tract fibrogenesis in biliary atresia. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 731-740 [PMID: 20725787 DOI: 10.1007/s10620-010-]
- 49 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 2007; 282: 22089-22101 [PMID: 17513865]
- 50 Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, Kalluri R. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282: 23337-23347 [PMID: 17562716]
- 51 Piera-Velazquez S, Li Z, Jimenez SA. Role of endo-thelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders. *Am J Pathol* 2011; 179: 1074-1080 [PMID: 21763673 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.06.001]

同行评价

本文较全面深入地总结该领域的研究进展, 为同行者提供参考。

- 52 Gressner OA, Rizk MS, Kovalenko E, Weiskirchen R, Gressner AM. Changing the pathogenetic roadmap of liver fibrosis? Where did it start; where will it go? *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1024-1035 [PMID: 18505415 DOI: 10.1111/j]
- 53 Bi WR, Yang CQ, Shi Q. Transforming growth factor- β 1 induced epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1960-1963 [PMID: 22369740 DOI: 10.5754/hge11750]
- 54 Dooley S, Hamzavi J, Ciucan L, Godoy P, Ilkavets I, Ehnert S, Ueberham E, Gebhardt R, Kanzler S, Geier A, Breittkopf K, Weng H, Mertens PR. Hepatocyte-specific Smad7 expression attenuates TGF- β -mediated fibrogenesis and protects against liver damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 642-659 [PMID: 18602923 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.038]
- 55 Nitta T, Kim JS, Mohuczy D, Behrns KE. Murine cirrhosis induces hepatocyte epithelial mesenchymal transition and alterations in survival signaling pathways. *Hepatology* 2008; 48: 909-919 [PMID: 18712785 DOI: 10.1002/hep.22397]
- 56 Copple BL. Hypoxia stimulates hepatocyte epithelial to mesenchymal transition by hypoxia-inducible factor and transforming growth factor- β -dependent mechanisms. *Liver Int* 2010; 30: 669-682 [PMID: 20158611 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010]
- 57 Chu AS, Diaz R, Hui JJ, Yanger K, Zong Y, Alpini G, Stanger BZ, Wells RG. Lineage tracing demonstrates no evidence of cholangiocyte epithelial-to-mesenchymal transition in murine models of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2011; 53: 1685-1695 [PMID: 21520179 DOI: 10.1002/hep.24206]
- 58 Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, Kisseleva T. Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 987-998 [PMID: 20546735 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.05.005]
- 59 Taura K, Miura K, Iwaisako K, Osterreicher CH, Kodama Y, Penz-Osterreicher M, Brenner DA. Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2010; 51: 1027-1036 [PMID: 20052656]
- 60 Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL, Pekalski M, Zhao L, Booth TA, Jones DE, Burt AD, Kirby JA. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Invest* 2008; 88: 112-123 [PMID: 18059363]
- 61 Sung R, Lee SH, Ji M, Han JH, Kang MH, Kim JH, Choi JW, Kim YC, Park SM. Epithelial-mesenchymal transition-related protein expression in biliary epithelial cells associated with hepatolithiasis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Aug 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23927024 DOI: 10.1111/jgh.12349]
- 62 Nobili V, Carpino G, Alisi A, Franchitto A, Alpini G, De Vito R, Onori P, Alvaro D, Gaudio E. Hepatic progenitor cells activation, fibrosis, and adipokines production in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2012; 56: 2142-2153 [PMID: 22467277 DOI: 10.1002/hep.25742]
- 63 Ji S, Wang X, Shu J, Sun A, Si W, Guo X, Zhao B, Ji W, Jin L. In vitro generation of myofibroblast-like cells from liver epithelial progenitor cells of rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2011; 47: 383-390 [PMID: 21461639 DOI: 10.1007/s11626-011-9401-z]
- 64 Yovchev MI, Grozdanov PN, Zhou H, Racherla H, Guha C, Dabeva MD. Identification of adult hepatic progenitor cells capable of repopulating injured rat liver. *Hepatology* 2008; 47: 636-647 [PMID: 18023068]
- 65 Kordes C, Sawitza I, Müller-Marbach A, Ale-Agha N, Keitel V, Klonowski-Stumpe H, Häussinger D. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352: 410-417 [PMID: 17118341]
- 66 Yang L, Jung Y, Omenetti A, Witek RP, Choi S, Vandongen HM, Huang J, Alpini GD, Diehl AM. Fate-mapping evidence that hepatic stellate cells are epithelial progenitors in adult mouse livers. *Stem Cells* 2008; 26: 2104-2113 [PMID: 18511600 DOI: 10.1634/stemcells.2008-0115]
- 67 Chobert MN, Couchie D, Fourcot A, Zafrani ES, Laperche Y, Mavier P, Brouillet A. Liver precursor cells increase hepatic fibrosis induced by chronic carbon tetrachloride intoxication in rats. *Lab Invest* 2012; 92: 135-150 [PMID: 21946857 DOI: 10.1038/labinvest.2011.143]
- 68 Shao DD, Suresh R, Vakli V, Gomer RH, Pilling D. Pivotal Advance: Th-1 cytokines inhibit, and Th-2 cytokines promote fibrocyte differentiation. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 1323-1333 [PMID: 18332234 DOI: 10.1189/jlb.1107782]
- 69 Österreicher CH, Penz-Österreicher M, Grivennikov SI, Guma M, Koltsova EK, Datz C, Sasik R, Hardiman G, Karin M, Brenner DA. Fibroblast-specific protein 1 identifies an inflammatory subpopulation of macrophages in the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 308-313 [PMID: 21173249 DOI: 10.1073/pnas.1017547108]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



不可切除胰腺癌射频消融治疗的进展

陈升阳, 李晓勇

陈升阳, 李晓勇, 郑州大学第五附属医院普外科 河南省郑州市 450052

陈升阳, 在读硕士, 主要从事不可切除胰腺癌的射频消融治疗。

作者贡献分布: 本文综述由陈升阳完成; 李晓勇审校。

通讯作者: 李晓勇, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区康复前街3号, 郑州大学第五附属医院普外科。

lixxy64@126.com

电话: 0371-66916956

收稿日期: 2013-04-13 修回日期: 2013-06-08

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-11-08

Radiofrequency ablation for unresectable pancreatic cancer

Sheng-Yang Chen, Xiao-Yong Li

Sheng-Yang Chen, Xiao-Yong Li, Department of General Surgery, the 5th Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Xiao-Yong Li, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the 5th Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 3 Kangfu Street, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lixy64@126.com

Received: 2013-04-13 Revised: 2013-06-08

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-11-08

Abstract

Pancreatic cancer is a malignant neoplasm characterized by hidden onset, rapid progression, short course and poor prognosis. Up to now, radical surgical resection is the only treatment which is expected to cure pancreatic cancer. However, most patients with pancreatic cancer are diagnosed at advanced stage and have lost the chance of operation. Radiofrequency ablation (RFA) is a palliative treatment which can reduce pain, improve the quality of life and prolong survival. RFA combined with ^{125}I seed implantation can further improve the therapeutic effect.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Unresectable; Pancreatic cancer; Radiofrequency ablation; ^{125}I seeds; Literature review

Chen SY, Li XY. Radiofrequency ablation for unresectable pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

2013; 21(31): 3383-3387 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3383>

摘要

胰腺癌是一种发病隐匿、进展迅速、治疗效果及预后极差的消化系统恶性肿瘤。迄今为止,根治性手术切除是唯一有望治愈胰腺癌的治疗方法,但大多数的胰腺癌患者发现时已属晚期,丧失了手术机会。射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是近些年兴起的一种姑息治疗方式,能够减轻患者疼痛,提高生活质量,延长生存期。另外,联合 ^{125}I 粒子植入治疗能够进一步提高治疗效果。本文对近年来RFA治疗不可切除的胰腺癌的临床研究作出总结。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 不可切除; 胰腺癌; 射频消融; ^{125}I 粒子; 综述文献

核心提示: 对于晚期不可切除的胰腺癌, RFA是一种安全且疗效肯定的治疗方法, 相比其他的姑息治疗方法, 他能收到更为满意的疗效, 但是具体参数的设置及操作要点尚需更进一步的研究和探讨。

陈升阳, 李晓勇. 不可切除胰腺癌射频消融治疗的进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(31): 3383-3387 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3383>

0 引言

胰腺癌是一种发病隐匿、进展迅速、疗效及预后极差的恶性肿瘤。2000年全球胰腺癌新发病例21.64万例, 占全部癌症新发病例2.2%; 同年共死亡21.35万例, 占全部癌症死亡人数的3.4%^[1]。2013年美国预计新增胰腺癌患者45220例, 死亡38460例, 在因肿瘤致死疾患中列第4位, 然而, 作为在全世界发病率如此高的疾病, 胰腺癌在确诊之后的5年生存率仅为6%^[2]。

■背景资料

胰腺癌约90%是起源于腺管上皮的管腺癌。患者早期多无明显临床症状, 发现时已失去手术机会。对于局部晚期不可切除的胰腺癌患者, 目前的姑息治疗方法很多, 但效果多不尽如人意。近年来, 临床上有学者报道对晚期不可切除的胰腺癌进行射频消融(radio frequency ablation, RFA)治疗, 疗效值得肯定。本文综合了国内外关于胰腺癌RFA的最新的动物实验及临床研究结果, 反映了国内外对不可切除胰腺癌RFA治疗进展, 认为胰腺癌RFA是一个较为安全可靠的方法。

■同行评议者

刘超, 教授, 主任医师, 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科; 李升平, 教授, 中山大学肿瘤医院肝胆科

■研发前沿

临床工作胰腺癌的RFA治疗被认为风险较大,术后并发症较为严重,主要研究热点是这一治疗方式的安全性,怎样通过调整RFA参数来提高安全性,同时又能够实现较好的临床疗效,有待进一步研究。

对于这样一种发病率高,致死率高的恶性肿瘤,目前传统的治疗方法,如手术、放疗、化疗或这些治疗方法的综合应用,都没有取得突破性的进展^[3]。迄今为止,根治性手术切除仍然是唯一有望治愈胰腺癌的治疗方法^[1],但是胰腺癌确诊时,有手术切除机会的患者只有约20%,局部晚期^[4](虽无远处转移,但累及腹腔干和肠系膜上动脉不能手术切除)患者和有远处转移患者各占40%左右^[5,6]。据报道,局部晚期胰腺癌患者中位生存期9-15 mo,而有远处转移的胰腺癌患者中位生存期只有6 mo^[7]。

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是热能治疗的一种,其基本原理是利用热能使组织产生凝固性坏死,达到杀灭肿瘤细胞的目的,据报道其最早应用于肝脏肿瘤的治疗^[8],也有学者将RFA应用到甲状腺^[9]、乳腺^[10]、肺^[11]、子宫^[12]、肾脏^[13]及骨骼系统^[14]等部位的肿瘤治疗中。

近年来,临床上有学者报道对晚期不可切除的胰腺癌进行射频消融治疗,本文将对近几年国内外的一些较大样本研究(>10例)做回顾性总结。

1 RFA治疗介绍

RFA是一种全新的物理损毁疗法,是一种肿瘤原位治疗技术,射频电流使人体组织内的离子发生震荡,相互摩擦后产生热能并迅速形成一个高温场,治疗区域温度达50℃,中央温度达80℃-100℃^[15]。新生的肿瘤细胞存在生理调节缺陷,对低温的耐受性强于正常细胞,而对高温的耐受性较正常组织差。RFA能使肿瘤局部温度增高,使其发生凝固性坏死。有研究表明^[16],局部热疗可以提高肿瘤患者的免疫功能,尤其是T淋巴细胞、自然杀伤细胞和巨噬细胞的免疫功能,从而激活机体的免疫机制,彻底杀灭肿瘤细胞。

2 动物实验相关研究

胰腺RFA方面的基础动物实验研究文献报道较少,近几年来,国内外最新的相关动物实验研究表明,动物胰腺的RFA安全性较好,严重并发症的发生率可以接受。

20世纪90年代末期,Goldberg等^[17]选择猪为实验动物,在内镜超声引导下将射频针导入猪的胰腺进行消融,术后病理显示细胞凝固性坏死,随时间推移坏死区域周围出现纤维组织包裹。几乎全部试验对象血清淀粉酶均处于正常基线水平。他们认为:RFA可以使猪胰腺产生凝固性坏死,且安全性较好。对于小的神经内分泌

肿瘤以及不能切除的胰腺癌的姑息治疗,这项技术有潜在的临床应用价值。

2009年,孙高峰等^[18]在CT引导下对健康家猪胰腺尾部进行RFA干预,探讨RFA治疗胰腺肿瘤的安全性和有效性。射频温度80℃,消融时间6 min。结果显示:RFA后早期坏死灶最明显,之后坏死灶逐渐缩小。血清淀粉酶均出现一过性轻中度升高;血清淀粉酶峰值出现在第3、7天后逐渐降低,至第14天接近正常水平,所有动物均未出现严重并发症。作者认为,CT引导下RFA能在猪正常胰腺上安全地造成一个确切的凝固性坏死灶,并发症发生率低。因此,对于临床上不能手术切除的胰腺癌患者,CT引导下RFA治疗有可能成为一种安全性较高的微创治疗方法,值得进一步研究和应用。但是在治疗范围和时间方面,以及如何控制治疗区域温度方面,仍需进一步探索和研究。

Date等^[19]制作了RFA猪胰腺的体外模型,并模拟门静脉血流状况来探讨和评估RFA时探头温度、消融时间和模拟门静脉血流等情况变化时胰腺组织的损伤。对于同一个对象,胰尾部分作为非消融对照。用苏木精和伊红和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸染色,分别观察细胞形态和氧化代谢功能的变化。他们认为温度90℃,消融时间5 min这个参数最优。在此温度下消融胰腺,相邻脏器无损伤,较高的温度或可导致胆管和门静脉损伤,而模拟门静脉血流对实验结果无影响。

研究表明,RFA消融动物胰腺,安全性值得肯定,术后影像学 and 病理学检查均很好地提示消融灶被逐步吸收,生化指标监测较为理想,严重并发症发生率低,综合并发症发生率也较低,受损胰腺恢复较快。影像学引导下消融尚无周围组织损伤的报道,若是在开腹状态下实施消融操作,控制好开腹手术操作的前提下,其消融的安全性可以得到更好的保障。对于消融区域中心温度以及消融时间的参数设置目前尚无公认的最优标准,需要进一步的研究总结。总之,基础动物实验的研究为临床应用提供了值得肯定的保证,奠定了RFA治疗胰腺疾病的基础。

3 临床研究

RFA治疗胰腺肿瘤,多数学者认为胰腺这一组织生理特性较为特殊,对于RFA的损伤不能够很好的耐受,导致术后胰漏等严重并发症的发生率较高,对于不能手术切除的胰腺癌患者,国内外做了较多的临床研究,包括回顾性研究和前瞻

性研究, 总体疗效值得肯定。

3.1 RFA治疗胰腺肿瘤的安全性以及耐受性 Girelli等^[20]介绍了100例局部晚期胰腺癌(64例胰头部癌, 36例胰尾部癌)患者RFA联合放化疗治疗的经验, 结果: 3例患者术后30 d内死亡, 在中位随访的12 mo中, 59例患者死亡, 有19例患者伴瘤生存, 22例患者肿瘤无进展生存, 其中1例患者目前为止仍无健康存活。总的中位生存期20 mo。他们提出RFA导致的主要并发症包括: 急性胰腺炎、胰漏、十二指肠溃疡出血等, 这些并发症很大程度上与消融温度相关。这项研究肯定了RFA治疗局部晚期胰腺癌这一措施的安全性及长期疗效。Matsui等^[21]对20例不能手术切除的胰腺癌患者施以RFA治疗, 1例出现感染性休克, 1例出现了消化系出血, 其他18例均无明显并发症发生, 这些结果表明, RFA治疗不可切除的胰腺肿瘤是相对安全的, 可以推广到无远处转移的胰腺癌患者, 包括胰腺的良性肿瘤。Wu等^[22]对16例晚期胰腺癌患者实施RFA治疗。消融边界与胰腺周边主要血管保持不小于5 mm的安全距离。术后50%伴有腰痛的患者腰痛症状明显缓解, 胰漏发生率18.8%(3例), 常规腹腔通畅引流后顺利愈合。死亡率为25%(4例), 肿瘤均位于胰头部。3例肿瘤靠近门静脉的患者分别于术后4、30、40 d死于消化系大量出血。他们认为: RFA治疗靠近门静脉的胰头部肿瘤危险性较高, 而且与主要胰周血管之间保留5 mm的最低安全距离可能不足以避免胰周血管损伤。

3.2 RFA治疗对患者的生活质量及远期生存率的改善 Spiliotis等^[23]总结了25例晚期不可切除胰腺癌患者的治疗经验, 其中13例接受化疗, 12例接受化疗的同时, 进行了RFA治疗。单纯化疗组患者平均存活13 mo, 最长存活30 mo。化疗联合RFA治疗组患者平均存活33 mo。作者认为RFA在胰腺晚期肿瘤的综合治疗中起到积极的作用。崔忠等^[24]选取60例不能切除的胰腺癌患者, 随机分为两组。RFA组: 开腹消融并胆道旁路手术或胃肠旁路手术。化疗组: 接受常规化疗(5-FU、丝裂霉素、阿霉素)同时经皮肝穿刺胆道引流(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)。临床受益: 射频消融组83.3%, 化疗组13.3%。RFA组黄疸指数、肿瘤标志物CEA和CA19-9降低较为显著, 且未出现出血(消化系、腹腔)、急性胰腺炎及胰漏等严重并发症。化疗组出现药物相关不良反应、十二指肠梗阻和PTCD引流管脱落等情况。RFA组和化疗组中位

生存期分别为16.5 mo和6.5 mo。结论: RFA联合胆道旁路手术治疗中晚期胰腺癌能够显著改善患者生存期和临床症状, 是一种安全可行、疗效确切的治疗方法。

3.3 胰腺癌RFA的术后并发症 Wu等^[22]将射频电极尖端的温度设置为90 ℃, 电极内部循环流动水冷却电极通道, 以减轻周围组织热损伤, 结果所有接受RFA治疗的25例患者, 术后均未出现严重的高淀粉酶血症。Matsui等^[21]入组20例局部晚期胰腺癌患者, 消融温度设定为50 ℃, 消融时间15 min, 1例患者出现感染性休克, 1例出现消化系出血, 剩余18例患者无明显并发症。

唐喆等^[25]报道了RFA治疗胰腺癌术后消化道出血3例, 他们认为消融设备参数设置不当是导致消化系出血的重要因素。Wu等^[22]将RFA设备调整为自动模式, 功率设定为0-200 W, 时间12 min, 控制尖端温度<30 ℃, 当温度达到90 ℃并保持1 min后拔出消融电极, 入组的全部16例患者中术后出现胰漏3例, 消化系出血3例, 4例死亡患者肿瘤均位于胰腺头部。显然, 这个参数的设置并不是安全的。

3.4 RFA联合¹²⁵I粒子植入治疗局部晚期胰腺肿瘤的疗效 ¹²⁵I属于低能量放射源, 种植在肿瘤组织后, 通过不断释放出的γ射线杀死肿瘤细胞, 而对正常组织损伤小, 可实现对恶性肿瘤的近距离治疗。较长的半衰期又可产生持续性杀伤作用, 使肿瘤细胞失去繁殖能力, 从而达到较为彻底的治疗效果。

Zou等^[26]对32例晚期不可切除的胰腺癌患者术中行RFA联合¹²⁵I粒子植入治疗。目的在于评价RFA与¹²⁵I粒子植入相结合治疗晚期胰腺癌的可行性、有效性和安全性。入组患者平均年龄68岁(范围48-90岁), 肿瘤直径4-12 cm, 其中23例患者肿瘤位于胰腺头部, 9例位于胰体尾部, 活检明确病理诊断。术后整体存活时间中位数17.5 mo。3例患者(10.6%)出现较为严重并发症(胆漏2例, 急性胰腺炎1例), 保守治疗后恢复。作者得出结论: 射频消融术联合¹²⁵I粒子植入是晚期胰腺癌患者可行且安全的治疗方法, 轻微并发症可以接受。

王慧宇等^[27]对11例不能手术切除的胰腺癌患者实施RFA联合¹²⁵I粒子植入治疗, 全部患者均有明显的腰背部疼痛, 其中9例胰头部肿瘤患者合并黄疸。消融完毕后超声引导下将¹²⁵I粒子植入肿瘤内。术后9例患者腰背部疼痛症状缓解, 9例黄疸患者胆红素浓度和CA19-9水平明显降

■ 相关报道

意大利学者Girelli等介绍了100例局部晚期胰腺癌患者RFA联合放化疗治疗的经验, 总的中位生存期20 mo, 肯定了RFA治疗局部晚期胰腺癌这一措施的安全性及长期疗效。本文引用的每篇报道, 病例数目都在10例以上, 研究结果令人满意, 基本反映这一治疗方式的学术前沿。

■创新盘点

本文对国内外研究文献进行总结, 所有文献研究样本量均大于10例, 对于晚期胰腺癌RFA治疗的这一新的方法, 具有很好的参考价值。

低, 所有患者均出现一过性血淀粉酶升高, 1 wk左右降至正常, 2例发生胰瘘, 均在1 mo内痊愈。作者认为, RFA与¹²⁵I粒子植入联合应用是综合治疗局部晚期胰腺癌的一种有效手段。

4 结论

RFA能最大限度地损毁肿瘤组织, 而其热效应又能使周围组织的血管凝固, 使小血管发生栓塞, 不能向肿瘤供血, 防止肿瘤生长及转移。RFA术中操作需要注意几个方面: (1)胰腺组织及肿瘤体积不规则, 周边毗邻较大的血管及脏器, 大的血管内血液流动会类似导体, 可带走部分射频消融过程中产生的热量, 发生“热沉效应”, 影响肿瘤的毁损程度^[28]; (2)操作时需尽量避开主胰管和门静脉, 以降低不必要的并发症发生风险; 对于胰腺体尾部肿瘤, 射频消融治疗疗效肯定, 但是对于胰腺头部较大的肿瘤, 目前尚缺乏大宗病例报道, 其临床受益和风险有待进一步研究总结。

肿瘤局部植入¹²⁵I放射性粒子联合射频消融治疗或许是一种令人期待的综合治疗方法, 报道显示其可持续性良好, 既可以杀灭肿瘤细胞, 又可以阻断相应的腹腔神经丛, 对于缩小肿瘤体积和缓解肿瘤疼痛有积极作用。

总之, 对于晚期不可切除的胰腺癌, RFA是一种安全且疗效值得肯定的治疗方法, 相比其他的姑息治疗方法, 他能收到更为满意的疗效, 但是具体参数的设置及操作要点尚需更进一步的研究和探讨。若同时结合术中¹²⁵I放射性粒子植入, 能够更大限度地杀灭肿瘤细胞, 减轻患者疼痛, 提高生活质量, 延长生存期。

5 参考文献

- 1 赵玉沛. 胰腺病学. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 494
- 2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
- 3 Li D, Xie K, Wolff R, Abbruzzese JL. Pancreatic cancer. *Lancet* 2004; 363: 1049-1057 [PMID: 15051286]
- 4 American Joint Committee on Cancer. Exocrine Pancreas. In: AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York, NY: pringer, 2002: 157
- 5 Morganti AG, Massacesi M, La Torre G, Caravatta L, Piscopo A, Tambaro R, Sofo L, Sallustio G, Ingrosso M, Macchia G, Deodato F, Picardi V, Ippolito E, Cellini N, Valentini V. A systematic review of resectability and survival after concurrent chemoradiation in primarily unresectable pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 194-205 [PMID: 19856029 DOI: 10.1245/s10434-009-0762-4]
- 6 Moss RA, Lee C. Current and emerging therapies for the treatment of pancreatic cancer. *Onco Targets*

- 7 *Ther* 2010; 3: 111-127 [PMID: 20856847]
- 8 Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-620 [PMID: 21620466 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62307-0]
- 9 Rossi S, Di Stasi M, Buscarini E, Cavanna L, Quaretti P, Squassante E, Garbagnati F, Buscarini L. Percutaneous radiofrequency interstitial thermal ablation in the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Cancer J Sci Am* 1995; 1: 73-81 [PMID: 9166457]
- 10 Na DG, Lee JH, Jung SL, Kim JH, Sung JY, Shin JH, Kim EK, Lee JH, Kim DW, Park JS, Kim KS, Baek SM, Lee Y, Chong S, Sim JS, Huh JY, Bae JI, Kim KT, Han SY, Bae MY, Kim YS, Baek JH. Radiofrequency ablation of benign thyroid nodules and recurrent thyroid cancers: consensus statement and recommendations. *Korean J Radiol* 2012; 13: 117-125 [PMID: 22438678 DOI: 10.3348/kjr.2012.13.2.117]
- 11 Vilar VS, Goldman SM, Ricci MD, Pincerato K, Oliveira H, Abud TG, Ajzen S, Baracat EC, Szejnfeld J. Analysis by MRI of residual tumor after radiofrequency ablation for early stage breast cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 198: W285-W291 [PMID: 22358027 DOI: 10.2214/AJR.10.5581]
- 12 Bargellini I, Bozzi E, Cioni R, Parentini B, Bartolozzi C. Radiofrequency ablation of lung tumours. *Insights Imaging* 2011; 2: 567-576 [PMID: 22347976]
- 13 Iversen H, Lenz S, Dueholm M. Ultrasound-guided radiofrequency ablation of symptomatic uterine fibroids: short-term evaluation of effect of treatment on quality of life and symptom severity. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 40: 445-451 [PMID: 22378629]
- 14 Payton S. Kidney cancer: safety and efficacy demonstrated for novel bipolar radiofrequency ablation system. *Nat Rev Urol* 2012; 9: 177 [PMID: 22450605 DOI: 10.1038/nrurol.2012.55]
- 15 Papathanassiou ZG, Petsas T, Papachristou D, Megeas P. Radiofrequency ablation of osteoid osteomas: five years experience. *Acta Orthop Belg* 2011; 77: 827-833 [PMID: 22308631]
- 16 刘静, 张学学, 卢文强, 王存诚. 肿瘤热疗探针加热下组织强度场演化规律的研究. *清华大学学报(自然科学版)* 1998; 38: 86-89
- 17 韩治宇, 董宝玮. 肝癌射频和微波热消融治疗的肿瘤免疫学进展. *中国医学影像学杂志* 2007; 15: 139-141
- 18 Goldberg SN, Mallory S, Gazelle GS, Brugge WR. EUS-guided radiofrequency ablation in the pancreas: results in a porcine model. *Gastrointest Endosc* 1999; 50: 392-401 [PMID: 10462663]
- 19 孙高峰, 叶风平, 田建明, 张峰, 汪建华, 张长宝. CT引导下射频消融对猪正常胰腺影响的实验研究. *介入放射学杂志* 2009; 5: 373-376
- 20 Date RS, McMahon RF, Siriwardena AK. Radiofrequency ablation of the pancreas. I: Definition of optimal thermal kinetic parameters and the effect of simulated portal venous circulation in an ex vivo porcine model. *JOP* 2005; 6: 581-587 [PMID: 16286709]
- 21 Girelli R, Frigerio I, Giardino A, Regi P, Gobbo S, Malleo G, Salvia R, Bassi C. Results of 100 pancreatic radiofrequency ablations in the context of a multimodal strategy for stage III ductal adenocarcinoma. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 63-69 [PMID: 23053459 DOI: 10.1007/s00423-012-1011-z]
- 22 Matsui Y, Nakagawa A, Kamiyama Y, Yamamoto K, Kubo N, Nakase Y. Selective thermocoagulation of unresectable pancreatic cancers by using radiofrequency capacitive heating. *Pancreas* 2000; 20: 14-20

- [PMID: 10630378]
- 22 Wu Y, Tang Z, Fang H, Gao S, Chen J, Wang Y, Yan H. High operative risk of cool-tip radiofrequency ablation for unresectable pancreatic head cancer. *J Surg Oncol* 2006; 94: 392-395 [PMID: 16967436]
- 23 Spiliotis JD, Datsis AC, Michalopoulos NV, Kekelos SP, Vaxevanidou A, Rogdakis AG, Christopoulou AN. Radiofrequency ablation combined with palliative surgery may prolong survival of patients with advanced cancer of the pancreas. *Langenbecks Arch Surg* 2007; 392: 55-60 [PMID: 17089173]
- 24 崔忠, 崔永泽, 魏强. 多极射频消融治疗不能切除胰腺癌的临床应用研究. 第五届中国肿瘤学术大会论文集 2008: 663
- 25 唐岳, 吴育连, 方河清, 刘颖斌, 高顺良. 射频消融治疗胰腺癌消化道出血三例. 中华普通外科杂志 2005; 20: 142
- 26 Zou YP, Li WM, Zheng F, Li FC, Huang H, Du JD, Liu HR. Intraoperative radiofrequency ablation combined with 125 iodine seed implantation for unresectable pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5104-5110 [PMID: 20976848]
- 27 王慧宇, 张骏, 高宏, 李力军. 超声引导射频消融联合 125I 粒子植入治疗进展期胰腺癌. 山东医药 2009; 28: 36-37
- 28 崔忠, 杜冬, 王振全, 崔永泽, 魏强, 赵清涛, 孙建斌. 多极射频消融治疗不能切除胰腺癌的临床应用研究. 华国防医药 2008; 20: 7

■同行评价

本文基本反映了国内外目前对不可切除胰腺癌的 RFA 治疗的现状和进展, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

纯阳正气胶囊对人胃癌细胞MGC-803增殖和凋亡的影响

吴 薇, 吴新荣

■背景资料

胃癌起源于胃壁最表层的黏膜上皮细胞,可发生于胃的各个部位,胃癌在中国发病率和死亡率均是世界平均水平两倍多。在临床上中成药大多为辅助肿瘤治疗药物,纯阳正气胶囊粉末温中散寒,可用于腹痛吐泻,胸膈胀满,但关于其对于胃癌细胞的作用疗效方面报道目前较少。

吴薇, 吴新荣, 华南理工大学轻工与食品学院 广东省广州市 510641

吴新荣, 中国人民解放军广州军区广州总医院药剂科 广东省广州市 510010

吴薇, 在读硕士, 主要从事糖类物质及其药物的制备与生物利用方面的研究。

作者贡献分布: 吴薇对此文做主要贡献; 此课题由吴薇与吴新荣设计; 由吴薇操作完成; 研究所用试剂及分析工具由吴新荣提供; 数据分析与论文写作由吴薇完成。

通讯作者: 吴新荣, 教授, 主任药师, 博士生导师, 510641, 广东省广州市天河区五山路381号, 华南理工大学轻工与食品学院, 中国人民解放军广州军区广州总医院药剂科。

gzwxr@yaho.com

收稿日期: 2013-01-14 修回日期: 2013-04-18

接受日期: 2013-10-11 在线出版日期: 2013-11-08

Effect of Chunyangzhengqi capsules on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803

Wei Wu, Xin-Rong Wu

Wei Wu, Xin-Rong Wu, College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510641, Guangdong Province, China

Xin-Rong Wu, Department of Pharmacy, General Hospital of Guangzhou, Military Command of PLA, Guangzhou 510010, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xin-Rong Wu, Professor, Chief Pharmacist, College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Department of Pharmacy, General Hospital of Guangzhou Military Command of PLA, 381 Wushan Road, Tianhe District, Guangzhou 510641, Guangdong Province, China. gzwxr@yaho.com

Received: 2013-01-14 Revised: 2013-04-18

Accepted: 2013-10-11 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To observe the effect of Chunyangzhengqi capsules on the growth of gastric cancer MGC-803 cells.

METHODS: MGC-803 cells were treated with Chunyangzhengqi capsules at a concentration of 200, 400, 800 or 1600 $\mu\text{g/mL}$. Cell morphological changes were observed under an inverted microscope. Cell cycle was examined by flow cytometry (FCM). Apoptosis was analyzed by Hoechst-33258 staining. The spectrometry was used to detect Caspase3 activity.

RESULTS: Chunyangzhengqi capsules inhibited the proliferation of MGC-803 cells in a dose- and time-dependent manner. The IC_{50} values of Chunyangzhengqi capsules at 24, 48 and 72 h were 1734, 1534 and 1094 $\mu\text{g/mL}$, respectively. After treatment, cells exhibited apoptosis in morphology. Chunyangzhengqi capsules could induce apoptosis of MGC-803 cells and block cells at S phase. The activity of Caspase3 was significantly increased in cells treated with Chunyangzhengqi capsules at a concentration of 1600 $\mu\text{g/mL}$ for 16 h.

CONCLUSION: Chunyangzhengqi capsules inhibit cell proliferation and induce apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Chunyangzhengqi capsules; MGC-803; Proliferation; Apoptosis

Wu W, Wu XR. Effect of Chunyangzhengqi capsules on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3388-3393 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3388.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3388>

摘要

目的: 探讨纯阳正气胶囊对胃癌细胞株MGC-803的增殖抑制效应。

方法: 采用不同浓度(200、400、800、1600 $\mu\text{g/mL}$)纯阳正气胶囊处理胃癌MGC-803细胞, 倒置显微镜下观察细胞的形态学改变; 运用3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]法检测细胞的增殖; 流式细胞术检测凋亡过程中的细胞周期变化; 细胞核荧光染色(Hoechst 33258)检测细胞凋亡情况; 采用分光光度法检测细胞裂解液中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase3)的活性。

结果: 纯阳正气胶囊呈时间-剂量依赖性抑制

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室; 黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

MGC-803细胞增殖, 分别作用24、48、72 h后半数抑制浓度依次为1734、1534及1094 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 倒置显微镜下可见凋亡细胞的形态学特征发生改变; 纯阳正气胶囊能诱导MGC-803细胞凋亡, 并阻滞细胞于S期; 此外, 纯阳正气胶囊1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 在16 h时可明显提高人胃癌细胞MGC-803中Caspase3的活化程度。

结论: 体外实验显示纯阳正气胶囊能抑制胃癌MGC-803细胞增殖并可以诱导胃癌MGC-803细胞凋亡。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 纯阳正气胶囊; 胃癌细胞MGC-803; 增殖; 细胞凋亡

核心提示: 胃癌起病隐匿, 若从平时就注意防治, 能从很大程度上降低胃癌的发病率, 纯阳正气胶囊粉末是一味温中散寒的中成药, 但关于其对胃癌的治疗作用尚未有相关报道。本实验科学的证明纯阳正气胶囊对于胃癌细胞有一定抑制作用, 从而为中成药对胃癌的防治开创了新的篇章。

吴薇, 吴新荣. 纯阳正气胶囊对人胃癌细胞MGC-803增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3388-3393 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3388.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3388>

0 引言

胃癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 死亡率占全部恶性肿瘤病因死亡人数的23.03%^[1,2]。临床上对胃癌患者进行化疗治疗之后会产生消化系统反应及骨髓抑制等不良反应, 因此利用中药诱导胃癌肿瘤细胞凋亡的研究才越来越被研究者关注^[3,4]。纯阳正气胶囊粉末是《中华人民共和国药典》处方“纯阳正气丸”的改制剂型, 是一味温中散寒的中成药, 其中土木香^[5]、雄黄^[6]、麝香^[7]、半夏^[8]、茯苓^[9]均有抗癌作用。实验以人源MGC-803胃癌细胞株为供试体, 验证了中成药纯阳正气胶囊对此胃癌细胞增殖的抑制作用。

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养基(Gibco公司); 胎牛血清(Gibco公司); 胰酶细胞消化液(Gibco公司); MTT、DMSO(Sigma公司); 细胞周期与凋亡检测试剂盒(南京凯基公司); Hoechst 33258荧光染料(上海碧云天生物技术公司); Caspase3活性

检测试剂盒(上海碧云天生物技术公司); 酶标仪(Biocell); 倒置显微镜(OLYMPUS CK40公司); 荧光倒置显微镜(ZELSS公司); 荧光正置显微镜(ZELSS公司); 流式细胞仪(Becton Dickison公司)。纯阳正气胶囊(合肥中联医药科技开发公司, 批号110301); MGC-803细胞株来自广州军区广州总医院实验科。

1.2 方法

1.2.1 纯阳正气胶囊的提纯: 取0.4 g纯阳正气胶囊粉末溶于100 mL 500 mL/L的乙醇中, 超声溶解30 min, 过滤残渣, 将澄清后的溶液装入蒸发皿, 水浴锅蒸干, 加入0.4 mL DMSO溶液溶解稠浆, 得到棕色无杂质粘稠液体, 4 °C冰箱储存, 备用, 实验时用细胞培养液稀释至所需浓度。

1.2.2 胃癌细胞株-MGC-803: 细胞株来自广州军区广州总医院实验科, 在含10%FBS的RPMI 1640培养液中, 置37 °C、体积分数5%CO₂、饱和湿度的温箱中培养传代, 选取对数生长期细胞用于实验研究。

1.2.3 培养细胞的形态学观察: 通过对每组取对数生长期MGC-803细胞, 接种于六孔板(1 × 10⁵/孔), 24 h后分别加入1600、800、400、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的药物, 设加入RPMI 1640培养液为空白对照组, DMSO稀释液为阴性对照组, 药物处理后24、48、72 h在倒置显微镜下连续观察细胞形态学变化。

1.2.4 MTT法检测纯阳正气胶囊对MGC-803细胞增殖的抑制作用: 取对数生长期细胞, 制成1 × 10⁵/mL的悬液, 按每孔200 μL 接种于3块96孔培养板。24 h后加药, 实验设空白对照组和阴性对照组及6种不同浓度药物组, 终浓度分别为: 1600、800、400、200、100、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 每一浓度设8个复孔。分别培养24、48和72 h, 每孔加入5 mg/mL MTT溶液20 μL , 继续培养4 h后终止培养, 小心吸取孔内上清液, 每孔加入DMSO 150 μL , 使结晶充分溶解, 酶标仪上机检测(震荡10 min, 测单波长570 nm处吸光值, 实验重复3次。按(A阴性对照组-A加药组)/(A阴性对照组-A空白对照组) × 100%计算药物对细胞的生长抑制率及用GraphPad Prim 5计算IC₅₀值。

1.2.5 流式细胞术法检测MGC-803细胞的生长周期及凋亡情况: 取对数生长期细胞按1 × 10⁶/孔接种于6孔板, 24 h后依据上述IC₅₀值分组加药, 即阴性对照组(0 $\mu\text{mol}/\text{L}$)和加药组(2000、1000及500 $\mu\text{g}/\text{mL}$); 分别继续培养24 h后, 收集细胞,

■相关报道

大量研究发现, 中成药可辅助化疗达到增效减毒作用, 消癌平片, 华蟾素片, 金蒲胶囊, 胃复春片等都对治疗胃癌取得了较好的疗效。

■创新盘点

对于纯阳正气胶囊的报道主要集中在解热消暑、改善胃肠功能、止泻、镇静和催眠等几个方面,尤其对于急性胃炎方面有较好的疗效,但是关于其对于胃癌的治疗方面的报道少之又少.本文通过纯阳正气胶囊对人胃癌细胞MGC-803增殖和凋亡的影响,说明其对于胃癌潜在的治疗效果.

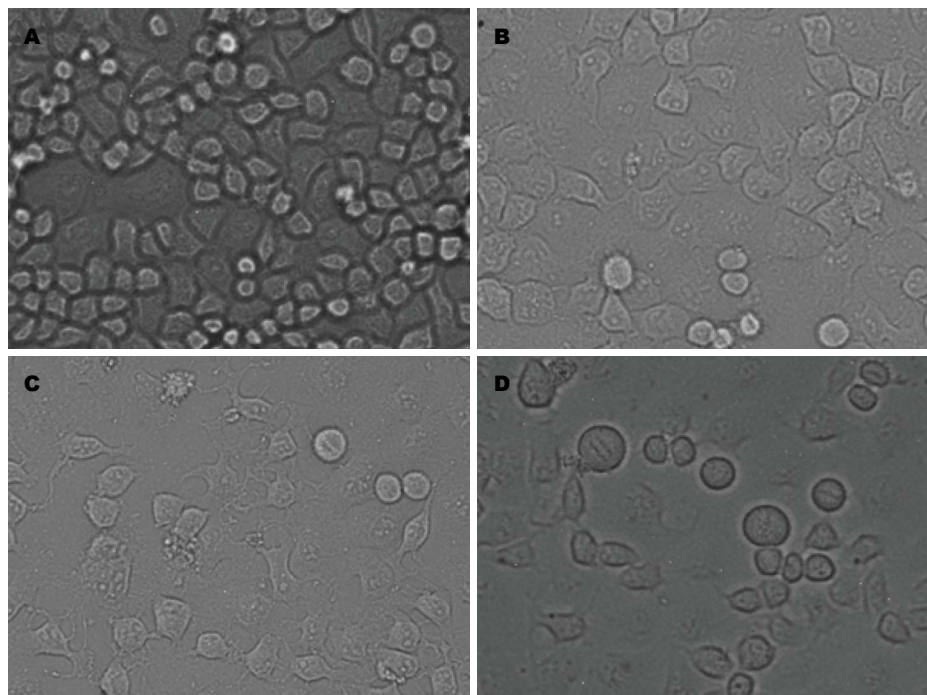


图1 药物处理MGC-803细胞24、48、72 h后的倒置显微镜下的形态变化(800 µg/mL). A: 阴性对照组; B: 纯阳正气胶囊处理24 h; C: 纯阳正气胶囊处理48 h; D: 纯阳正气胶囊处理72 h.

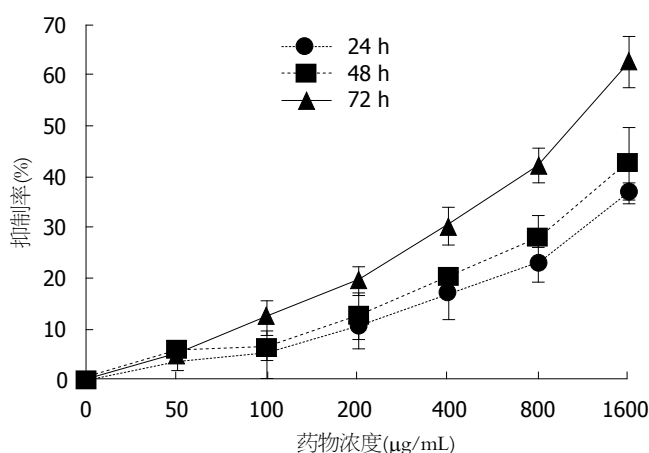


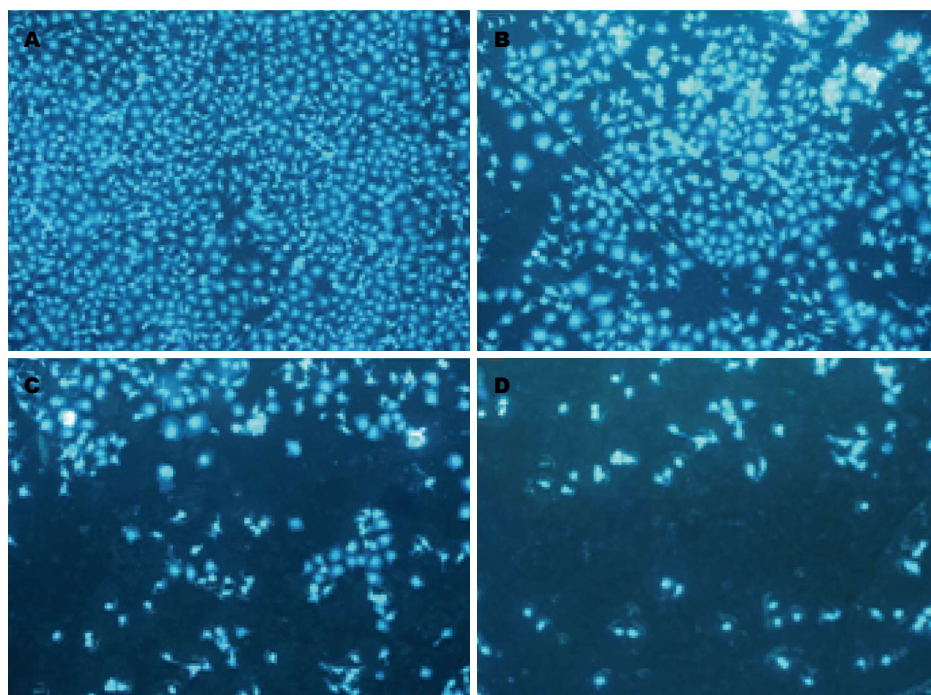
图2 纯阳正气胶囊对MGC-803的生长抑制作用.

依照凯基细胞周期及凋亡检测试剂盒的操作步骤进行,最终每个样品收集10000个细胞,用上流式细胞仪检测.试验重复3次,用CellQuest软件进行分析,测定DNA含量和亚二倍体峰在细胞周期所占百分比.

1.2.6 Hoechst 33258荧光染色: 将细胞以 1×10^6 /孔接种于6孔培养板(内含盖玻片),待细胞爬片后加入纯阳正气胶囊药液,使终浓度为1600、800、400和200 µg/mL,同时设立空白对照组和阴性对照组,作用24 h后弃培养液,用4%多聚甲醛固定细胞,4 °C固定10-20 min; PBS清洗2次后,加Hoechst 33258染色液,室温10 min,用PBS洗2遍,每次3 min,在超净台中避光风干,在荧光正

置显微镜下观察并拍照,实验重复3次.

1.2.7 Caspase3活性测定: 取对数生长期细胞按 1×10^6 /孔接种于6孔板;分别继续培养24 h后,加入纯阳正气胶囊使终浓度为1600 µg/mL,在2、4、8、16、32 h这5个不同时间点诱导细胞凋亡,同时设立空白对照组,收集细胞,依照碧云天Caspase3活性检测试剂盒的操作步骤进行,在100 µL裂解液中冰浴裂解15 min,4 °C 16 000-20 000 r/min离心10-15 min.取少量样品用Bradford法测定蛋白浓度,尽量使蛋白浓度达到1-3 mg/mL,取30 µg的样品与60 µL的检测缓冲液和10 µL的Ac-DEVD-pNA置于96孔板中,37 °C孵育2 h,酶标仪上机检测(测单波长405 nm处



应用要点

纯阳正气胶囊可将MGC-803细胞阻滞于S期并且使Caspase3的活化程度显著提高, 证明纯阳正气胶囊是通过影响细胞周期以及活化Caspase通路来达到抑制细胞增殖, 促进胃癌细胞凋亡的目的。

图3 MGC-803细胞凋亡的形态变化(Hoechst 33258荧光染色). A: 0 $\mu\text{g/mL}$ 纯阳正气胶囊; B: 400 $\mu\text{g/mL}$ 纯阳正气胶囊; C: 800 $\mu\text{g/mL}$ 纯阳正气胶囊; D: 1600 $\mu\text{g/mL}$ 纯阳正气胶囊。

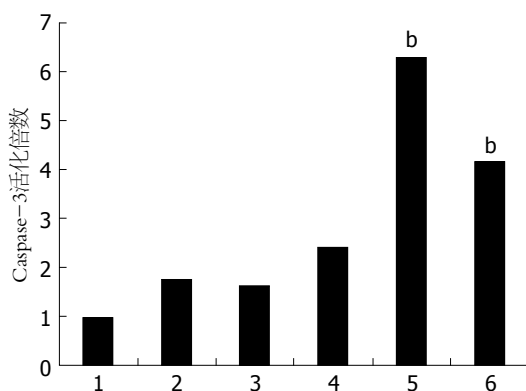


图4 纯阳正气胶囊对胃癌MGC-803细胞Caspase3的活化作用。^b $P < 0.01$ vs 对照组。1: 对照组; 2: 加药组2 h; 3: 加药组4 h; 4: 加药组8 h; 5: 加药组16 h; 6: 加药组32 h。

吸光值), 实验重复3次. 通过计算 $A(\text{诱导剂})/(A(\text{空白对照}))$ 的倍数来确定凋亡诱导剂组Caspase3活化程度。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行方差分析和 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 倒置显微镜观察MGC-803胃癌细胞生长情况 正常MGC-803胃癌细胞的细胞形态(图1A阴性组细胞)呈梭型、三角形或多边形, 细胞突伸展, 贴壁生长良好; 经纯阳正气胶囊(800 $\mu\text{g/mL}$)作用后的细胞随着作用时间增长, 细胞形状逐渐变圆浮起, 活细胞数量渐渐减少, 死亡细胞增

多, 细胞边缘变钝悬浮有许多细胞碎片(图1)。

2.2 纯阳正气胶囊对肿瘤细胞增殖抑制作用 MTT法检测结果发现, 纯阳正气胶囊能抑制MGC-803细胞的增殖, 并呈现时间和剂量依赖性, 即随着药物浓度的增加和作用时间的延长, 细胞增殖抑制作用明显加强($P < 0.05$)。24、48和72 h时 IC_{50} 分别为1734、1534及1094 $\mu\text{g/mL}$ (图2)。

2.3 纯阳正气胶囊对胃癌细胞周期的影响 不同浓度的纯阳正气胶囊作用MGC-803细胞后, 经流式细胞术检测发现, 随着纯阳正气胶囊浓度的增加, 各浓度药物处理组与空白组和阴性组相比 G_0/G_1 期细胞比例逐渐下降; S期细胞比例逐渐上升; G_2/M 期细胞比例明显下降($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性(表1)。

2.4 Hoechst 33258荧光染色观察胃癌细胞凋亡形态 正置荧光显微镜下观察发现不同浓度纯阳正气胶囊作用72 h后, 形态呈剂量增加而变化明显, 空白组染色质分布均匀, 细胞体积大小一致, 呈弥散均匀蓝白色荧光; 而400 $\mu\text{g/mL}$ 作用组部分细胞染色质呈浓染的块状或颗粒状, 聚集于核周边, 出现凋亡小体; 800 $\mu\text{g/mL}$ 作用组较多细胞胞内染色质分布不均, 形成荧光斑点, 细胞数量明显减少, 1600 $\mu\text{g/mL}$ 作用组出现细胞碎片及凋亡小体, 呈凋亡特征性改变, 效果很明显(图3)。

2.5 纯阳正气胶囊对胃癌MGC 803细胞Caspase3

■同行评价

本文的出发点很好,观察药典纯阳正气丸改剂型新药对胃癌细胞株增殖和凋亡的作用,有一定的科学意义和应用价值。

表 1 纯阳正气胶囊对胃癌MGC-803细胞周期的影响 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组	浓度(μ g/mL)	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
空白对照组	—	68.34 \pm 0.27	17.75 \pm 0.76	22.38 \pm 0.12
阴性对照组	—	67.87 \pm 0.73	18.34 \pm 0.25	22.88 \pm 0.91
纯阳正气胶囊组	200	62.60 \pm 0.18 ^a	24.85 \pm 0.91 ^a	18.69 \pm 0.35 ^a
纯阳正气胶囊组	400	55.38 \pm 0.86 ^a	31.63 \pm 0.2b	13.37 \pm 0.83 ^b
纯阳正气胶囊组	800	42.32 \pm 0.91 ^b	39.18 \pm 0.35 ^b	8.45 \pm 0.25 ^b
纯阳正气胶囊组	1600	24.57 \pm 0.36 ^b	48.97 \pm 0.24 ^b	3.24 \pm 0.33 ^b

^a $P < 0.05$ vs 阴性对照组; ^b $P < 0.01$ vs 阴性对照组。

活化程度 Caspase3活化程度测试结果显示, 8 h起纯阳正气胶囊对Caspase3活化程度开始有影响, 到16 h时活化程度呈倍数增长($P < 0.05$)(图4)。

3 讨论

胃癌是全球范围内高发的恶性肿瘤之一, 严重威胁着人类的健康^[1]。化疗作为常用的肿瘤治疗的手段之一, 常伴随着严重的不良反应, 主要表现在骨髓功能抑制和消化系反应^[10,11]; 至今, 在临床上中成药大多定位为辅助肿瘤治疗药物, 可以达到增效减毒的作用, 即改善骨髓抑制, 提高机体的免疫力等作用, 同时降低肿瘤细胞的活力, 减少转移的可能性^[12-15]。

纯阳正气胶囊粉末是一味温中散寒的中成药, 由茯苓、白术、土木香、半夏、麝香、雄黄等具有抗癌作用的中药组成, 可用于暑天感寒受湿, 腹痛吐泻, 胸膈胀满, 但是关于纯阳正气胶囊对胃癌的治疗作用尚未有相关报道。

本实验选取胃癌细胞株MGC-803, 采用MTT法研究纯阳正气胶囊对MGC-803增殖的影响。MTT实验结果显示, 一定浓度的纯阳正气胶囊对胃癌细胞株MGC-803有较好的抑制增殖的作用, 并呈现一定的量效和时效关系; 流式细胞仪检测细胞周期结果表明: 经纯阳正气胶囊处理后, MGC-803细胞的细胞周期变化明显, G₀/G₁期细胞比例逐渐下降; S期细胞比例逐渐上升; G₂/M期细胞比例明显下降; 纯阳正气胶囊可将MGC-803细胞阻滞于S期; 倒置显微镜下呈现出早期的细胞凋亡形态学特征; Hoechst 33258实验结果显示, 经纯阳正气胶囊处理后胃癌细胞出现了细胞凋亡形态学特征, Caspase3活化程度显著提高, 说明纯阳正气胶囊可以诱导胃癌细胞MGC-803凋亡。

纯阳正气胶囊可以抑制胃癌细胞的增殖, 可能与其造成细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡有关,

关于纯阳正气胶囊抗肿瘤的具体作用机制以及纯阳正气胶囊抗肿瘤的药效物质基础还有待进一步深入研究。

4 参考文献

- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21 [PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]
- Meza-Junco J, Sawyer MB. Metastatic gastric cancer - focus on targeted therapies. *Biologics* 2012; 6: 137-146 [PMID: 22807624 DOI: 10.2147/BTT.S23917]
- Tongdee R, Kongkaw L, Tongdee T. A study of wall thickness of gastric antrum: comparison among normal, benign and malignant gastric conditions on MDCT scan. *J Med Assoc Thai* 2012; 95: 1441-1448 [PMID: 23252211]
- Zhou F, Li N, Jiang W, Hua Z, Xia L, Wei Q, Wang L. Prognosis significance of HER-2/neu overexpression/amplification in Chinese patients with curatively resected gastric cancer after the ToGA clinical trial. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 274 [PMID: 23249720 DOI: 10.1186/1477-7819-10-274]
- Chen CN, Huang HH, Wu CL, Lin CP, Hsu JT, Hsieh HP, Chuang SE, Lai GM. Isocostunolide, a sesquiterpene lactone, induces mitochondrial membrane depolarization and caspase-dependent apoptosis in human melanoma cells. *Cancer Lett* 2007; 246: 237-252 [PMID: 16697106 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.03.004]
- Zhao QH, Zhang Y, Liu Y, Wang HL, Shen YY, Yang WJ, Wen LP. Anticancer effect of realgar nanoparticles on mouse melanoma skin cancer in vivo via transdermal drug delivery. *Med Oncol* 2010; 27: 203-212 [PMID: 19280372 DOI: 10.1007/s12032-009-9192-1]
- Zheng GQ, Kenney PM, Lam LK. Isolation and biological evaluation of potential cancer chemopreventive agents from ambrette musk residue. *J Pharm Sci* 1992; 81: 950-953 [PMID: 1432647 DOI: 10.1002/jps.2600810923]
- Li GL, Jiang W, Xia Q, Chen SH, Ge XR, Gui SQ, Xu CJ. HPV E6 down-regulation and apoptosis induction of human cervical cancer cells by a novel lipid-soluble extract (PE) from *Pinellia pedatisecta* Schott in vitro. *J Ethnopharmacol* 2010; 132: 56-64 [PMID: 20311108]

- 20659543 DOI: 10.1016/j.jep.2010.07.035]
- 9 Zhang M, Chiu LC, Cheung PC, Ooi VE. Growth-inhibitory effects of a beta-glucan from the mycelium of *Poria cocos* on human breast carcinoma MCF-7 cells: cell-cycle arrest and apoptosis induction. *Oncol Rep* 2006; 15: 637-643 [PMID: 16465424]
- 10 Janelins MC, Tejani MA, Kamen C, Peoples AR, Mustian KM, Morrow GR. Current pharmacotherapy for chemotherapy-induced nausea and vomiting in cancer patients. *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14: 757-766 [PMID: 23496347 DOI: 10.1517/14656566.2013.776541]
- 11 Rajesh R, Sudha V, Varma D, Sonika S. Association between medication adherence outcomes and adverse drug reactions to highly active antiretroviral therapy in Indian human immunodeficiency virus-positive patients. *J Young Pharm* 2012; 4: 250-260 [PMID: 23492531 DOI: 10.4103/0975-1483.104369]
- 12 Wang JY, Xiao L, Chen J, Zhai JB, Mu W, Mao JY, Shang H. Potential effectiveness of traditional Chinese medicine for cardiac syndrome X (CSX): a systematic review and meta-analysis. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 62 [PMID: 23497135]
- 13 Grover A, Katiyar SP, Jeyakanthan J, Dubey VK, Sundar D. Blocking protein kinase C signaling pathway: mechanistic insights into the anti-leishmanial activity of prospective herbal drugs from *Withania somnifera*. *BMC Genomics* 2012; 13 Suppl 7: S20 [PMID: 23281834 DOI: 10.1186/1471-2164-13-S7-S20]
- 14 Butler L, Pilkington K. Chinese herbal medicine and depression: the research evidence. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 739716 [PMID: 23476701 DOI: 10.1155/2013/739716]
- 15 Pei L, Bao Y, Liu S, Zheng J, Chen X. Material basis of Chinese herbal formulas explored by combining pharmacokinetics with network pharmacology. *PLoS One* 2013; 8: e57414 [PMID: 23468985 DOI: 10.1371/journal.pone.0057414]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

干扰素- γ 基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型的建立

陈明发, 夏幼辰, 林永, 孙潺, 杨东亮, 吴珺

■背景资料

慢性乙型肝炎病毒感染仍是最常见的病毒性感染性疾病之一, 严重危害人类健康。HBV感染的转归取决于宿主免疫与病毒等多方面因素, 其中, IFN- γ 为高度生物活性的细胞免疫因子, 在HBV感染中起着重要的作用, 直接影响HBV感染的结局。

陈明发, 南昌大学第二附属医院感染性疾病科 江西省南昌市 330006

夏幼辰, 林永, 孙潺, 杨东亮, 吴珺, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染性疾病科 湖北省武汉市 430030

陈明发, 博士, 主要从事感染与免疫的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81001313

中国博士后基金资助项目, No. 20090460949

作者贡献分布: 此课题由陈明发与吴珺设计; 吴珺与杨东亮对课题进行指导; 陈明发完成大部分实验与数据分析; 夏幼辰、林永及孙潺参与完成部分实验及作图; 本论文写作由陈明发与吴珺完成。

通讯作者: 吴珺, 博士后, 430030, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染性疾病科。

joeanjune327@yahoo.com

电话: 027-85726978

收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-09-27

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-08

An IFN- γ knockout mouse model of HBV persistence

Ming-Fa Chen, You-Chen Xia, Yong Lin, Chan Sun, Dong-Liang Yang, Jun Wu

Ming-Fa Chen, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

You-Chen Xia, Yong Lin, Chan Sun, Dong-Liang Yang, Jun Wu, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81001313; and the China Postdoctoral Science Foundation, No. 20090460949

Correspondence to: Jun Wu, Post Doctor, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 330006, Hubei Province, China. joeanjune327@yahoo.com

Received: 2013-09-08 Revised: 2013-09-27

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To develop an interferon- γ (IFN- γ) knockout mouse model of HBV persistence.

METHODS: Nine IFN- γ knock-out (IFN- $\gamma^{-/-}$) mice were injected hydrodynamically with 10 micrograms of pAAV/HBV1.2 DNA *via* the tail vein. Nine wild-type C57BL/6 mice were used as controls. After injection, blood samples were regularly taken to monitor serum levels of HB-

sAg, HBeAg and HBV DNA. HBsAg and HBeAg were determined by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) on an E170 analyzer. Total DNA was extracted from serum samples and used for detection of HBV DNA by real-time PCR.

RESULTS: Serum HBsAg, HBeAg and HBV DNA in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were continuously positive until 40 days after the injection of the pAAV/HBV1.2 DNA. The levels and duration of serum HBsAg, HBeAg and HBV DNA in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were similar to those in control mice. Serum HBsAg levels in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were higher than those in wild-type C57BL/6 mice on day 40 post injection ($P = 0.042$). Serum HBV DNA levels in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were persistently higher than those in wild-type C57BL/6 mice ($P = 0.012$, on day 25; $P = 0.039$, on day 40). No significant difference was observed in serum HBeAg levels between IFN- $\gamma^{-/-}$ mice and control mice.

CONCLUSION: We have successfully developed an IFN- $\gamma^{-/-}$ mouse model of HBV persistence. Our data suggest that IFN- γ could suppress HBV replication during chronic HBV infection.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: IFN- γ ; IFN- $\gamma^{-/-}$ mice; Chronic hepatitis B; Animal model

Chen MF, Xia YC, Lin Y, Sun C, Yang DL, Wu J. An IFN- γ knockout mouse model of HBV persistence. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3394-3399 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3394>

摘要

目的: 建立干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制模型。

方法: IFN- γ 基因敲除(IFN- $\gamma^{-/-}$)小鼠繁育并抽提组织DNA进行聚合酶链反应(PCR)及

■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

凝胶电泳鉴定基因型。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠纯合子9只与野生型C57BL/6小鼠9只同时高压水注射pAAV/HBV1.2质粒,按既定时间点采血检测乙肝表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)、乙肝e抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)和HBV DNA。血清HBsAg和HBeAg表达水平由电化学发光法进行定量检测。经抽提血清总DNA后,血清HBV DNA由定量PCR进行检测。

结果:本实验室繁殖的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠均为纯合子基因型。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠和野生型C57BL/6小鼠血清中HBsAg、HBeAg和HBV DNA持续存在,转染后第40天仍阳性。但是,IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg表达水平高于C57BL/6野生小鼠(40天时, $P = 0.042$); IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBV DNA持续高水平复制,明显高于C57BL/6野生小鼠(第25天时, $P = 0.012$; 第40天时, $P = 0.039$)。两组小鼠血清HBeAg表达水平无差异。

结论:IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV复制模型成功建立,并揭示了IFN- γ 在慢性HBV感染中可抑制HBV复制。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: IFN- γ ; IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠; 慢性乙型肝炎; 动物模型

核心提示: 本研究成功建立了干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)基因敲除小鼠乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)持续复制模型,该模型小鼠血清病毒血症持续时间长,而IFN- γ 基因缺陷。因此,本研究揭示了IFN- γ 是机体内一个非常重要的免疫调节和效应因子,在HBV持续感染过程中都发挥着重要的抗HBV作用。

陈明发, 夏幼辰, 林永, 孙磊, 杨东亮, 吴珺. 干扰素- γ 基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3394-3399 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3394>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球范围内最常见的病毒感染性疾病之一,全球范围内大约4亿人为慢性HBV感染者^[1]。人体免疫系统对HBV初始感染的免疫应答决定了HBV感染的转归。导致HBV慢性感染取决于多重因素相互作用,其包括宿主遗传背景、病毒

与环境等因素^[2]。干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)是由免疫细胞(Th1和NK细胞)在免疫应答过程中产生的具有高度生物活性的细胞因子,能抑制Th2细胞增殖分化,具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等功能。有关研究显示,IFN- γ 对细胞内病毒感染起着重要防御作用,而且促进了免疫介导的炎症应答^[3],参与了抑制HBV DNA复制或HBV的清除。为了进一步研究IFN- γ 在慢性HBV感染中作用,以及其在抑制HBV DNA复制或清除HBV中的作用机制,我们利用IFN- γ 基因敲除(IFN- $\gamma^{-/-}$)小鼠建立慢性HBV感染复制模型,来探讨HBV感染与IFN- γ 之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠(C57BL/6背景), 3 ♂ 3 ♀, 6-8周龄, 体质量22 g, 由南京青紫兰科技有限公司提供; C57BL/6 ♂ 小鼠, 9只, 6-8周龄, 体质量20-22 g, 由北京华阜康生物科技有限公司提供; 小鼠均按照无特定病原体(SPF)级动物饲养标准进行饲养,屏障环境内控制12-12 h光暗循环,温度在20 °C-25 °C,湿度控制在40%-70%,用钴60辐照饲料灭菌,垫料和饮水均经过高温高压灭菌处理后使用,实行自由采食和饮水; pAAV/HBV1.2质粒由国立台湾大学医学院Peijer Chen教授惠赠; 其他的使用试剂包括: E.Z.N.A.TM Tissue DNA Kit(OMEGA, USA); SYBR Green Real-time PCR Master Mix(TOYOBO, Japan); E.Z.N.A.TM Endo-Free Plasmid Maxi kit and E.Z.N.A.TM Endo-Free Plasmid Mini kit(OMEGA, USA); QIAamp MinElute virus spin kit(Qiagen, German); Elecsys HBsAg II reagent kit and Elecsys HBeAg reagent kit(Roche, USA)。

1.2 方法

1.2.1 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁殖与鉴定: IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠按1只雄鼠和1只雌鼠合笼的方式进行繁殖,共繁殖出13只 ♂ 小鼠,周龄6-8 wk(体质量20-22 g)时进行基因型鉴定。取小许小鼠尾组织,使用OMEGA tissue DNA试剂盒抽提组织DNA。然后,用PCR及琼脂糖凝胶电泳法鉴定IFN- γ 基因缺陷小鼠IFN- γ 基因型。引物序列由上述公司提供,并由上海英潍捷基贸易有限公司合成。引物序列如下: 引物1: IFN- γ knockdown primer 1: CCT TCT ATC GCC TTC TTG ACG; 引物2: IFN- γ knockdown primer 2: AGA AGT AAG TGG AAG GGC CCA GAA G; 引物3: IFN- γ knockdown primer 3:

■ 研发前沿

在临床上,IFN- γ 基因多态性与HBV感染的临床结局之间关系,以及自限性HBV感染中IFN- γ 对临床转归的作用,均是当前研究的热点问题。在基础研究方面,主要是探讨IFN- γ 在HBV感染过程中抑制病毒复制或清除病毒的细胞免疫机制。

■ 相关报道

IFN- γ 在急性HBV自限性感染中高水平表达,具有清除HBV的作用;IFN- γ 受体基因单个核苷酸多态性与HBV感染的风险高低密切相关;细胞毒性T淋巴细胞被HBV激活后表达IFN- γ ,通过非细胞裂解和诱导趋化因子等机制清除HBV。

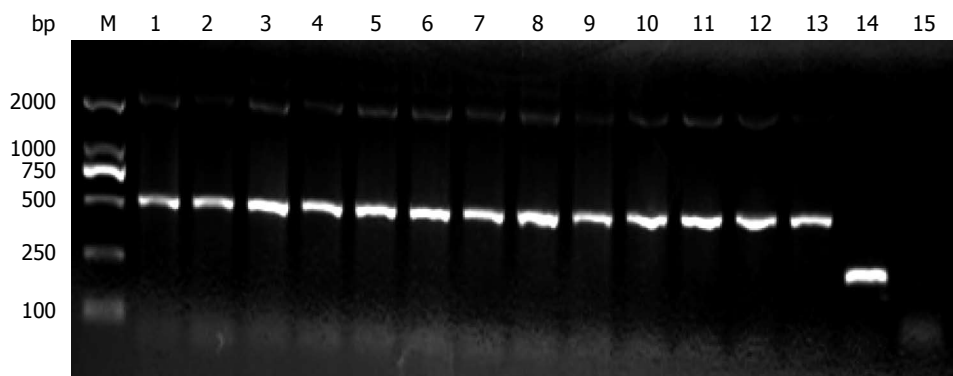


图1 部分的干扰素- γ 基因敲除小鼠基因型鉴定。IFN- γ 基因敲除小鼠与野生小鼠基因型通过PCR及琼脂糖凝胶电泳法鉴定:突变型条带:500 bp,野生型条带:210 bp,杂合子条带:210 bp与500 bp两条带。M:DL2000 Marker; Lane 1-13: IFN- γ 基因敲除小鼠子代; Lane 14:野生小鼠; Lane 15:阴性对照。

AGG GAA ACT GGG AGA GGA GAA ATA T.
25 μ L PCR反应体系如下: 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, 15 mmol/L MgCl₂ 2.5 μ L, 10 mmol/L dNTPs 0.5 μ L, 5 mol/L betain 2.5 μ L, 5 U/ μ L Taq DNA polymerase 0.5 μ L, 引物1、2及3 20 μ mol/L各0.625 μ L, 加H₂O 13.625 μ L至24 μ L, 再加DNA模板1 μ L。PCR反应过程: (1)94 $^{\circ}$ C预变性3 min; (2)94 $^{\circ}$ C变性30 s, 63 $^{\circ}$ C退火45 s, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 共35循环; 最后再72 $^{\circ}$ C延伸3 min, 10 $^{\circ}$ C保存。电泳鉴定: 取PCR反应终产物10 μ L在1%琼脂糖凝胶电泳。小鼠组织琼脂糖凝胶电泳基因型片段为: 突变型为500 bp, 野生型为210 bp, 杂合子为210 bp与500 bp两条带, 按条带鉴别出各个基因型小鼠。

1.2.2 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型建立: (1)质粒制备: pAAV/HBV1.2质粒按标准的质粒DNA大量提取方案, 获得大量的pAAV/HBV1.2质粒; (2)高压水注射法转染小鼠: 取上述繁殖的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠13只中9只与 δ C57BL/6野生小鼠9只, 用于建立慢性乙型肝炎病毒复制模型。10 μ g pAAV/HBV1.2质粒DNA溶于小鼠体质量10%的体积生理盐水, 通过高压水注射方式从小鼠尾静脉注入, 5-10 s内注射完全部剂量; (3)采取血样本: 1%戊巴比妥钠麻醉动物, 眼眶采血, 分离血清。

1.2.3 定量ELISA检测小鼠血清中乙肝表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)和乙肝e抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)表达: 高压水注射pAAV/HBV1.2后, 按既定时间点收集血清样本。用于检测HBsAg和HBeAg的血清样本用通用稀释液10倍稀释。E170 analyzer仪上电化学发光法自动定量检测HBsAg和HBeAg。

1.2.4 定量PCR检测小鼠血清中HBV DNA复制水平: 应用Qiagen公司试剂盒抽提上述血清样本总DNA, 用Real-time PCR检测血清HBV DNA水平。

统计学处理 数据用mean \pm SD表示。使用统计学软件SPSS18.0进行数据分析, 组间均数比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因敲除小鼠繁殖与基因型鉴定 我们所购进的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠均为纯合子突变株, 其13只 δ 子代均应为纯合子。结果如图1。所示用于实验的小鼠鉴定结果, 1-13号小鼠均为纯合子, 出现500 bp条带。14号小鼠为野生型对照, 目的条带为210 bp。

2.2 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型建立成功 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在高压水注射pAAV/HBV1.2质粒后第10、15、20、25、30、35和40天采血, 分离血清。C57BL/6小鼠作为对照, 也进行如上处理。结果与C57BL/6小鼠相似, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg、HBeAg及其HBV DNA持续阳性(图2-4)。在第40天时, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg、HBeAg及其HBV DNA仍全部阳性。据此, 我们已成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型。

然而, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg表达水平高于C57BL/6野生小鼠, 在第40天时血清HBsAg表达水平(图2)与C57BL/6野生小鼠相比具有明显差异($P = 0.042$)。两组小鼠血清HBeAg表达水平及持续时间(图3)无明显差别。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBV DNA(图4)持续高水平复制, 明显高于C57BL/6野生小鼠(第25天时, $P = 0.012$; 第40天时, $P = 0.039$)。

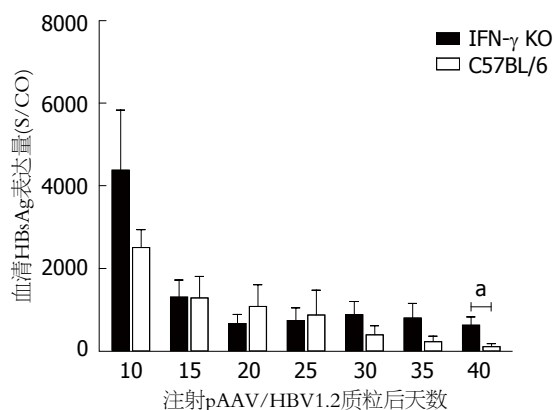


图 2 干扰素- γ 基因敲除小鼠血清HBsAg持续高水平表达。 $P = 0.42 < 0.05$ vs C57BL/6。

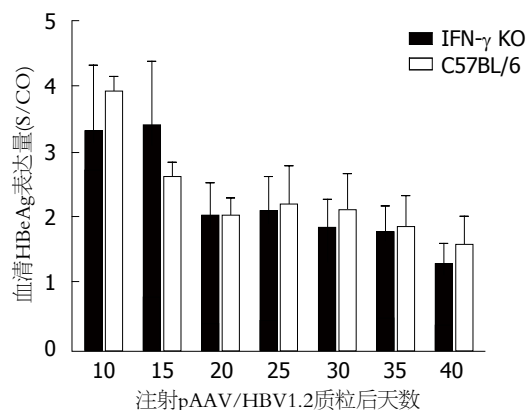


图 3 干扰素- γ 基因敲除小鼠血清HBeAg表达水平与C57BL/6野生小鼠无差别。

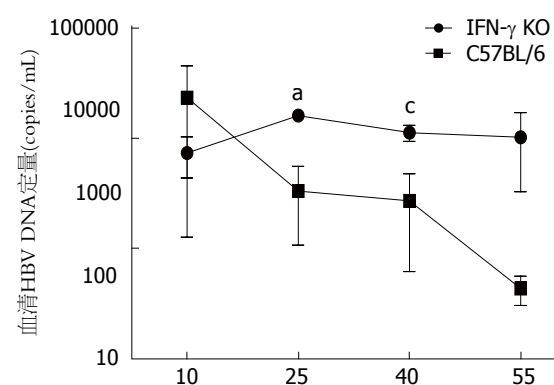


图 4 干扰素- γ 基因敲除小鼠血清HBV DNA复制水平高于C57BL/6野生小鼠。 $P = 0.012 < 0.05$ vs 25 d C57BL/6, $P = 0.039 < 0.05$ vs 40 d C57BL/6。

3 讨论

我们的结果显示已成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV持续复制模型。Huang等^[4]通过尾静脉高压水注射pAAV/HBV1.2质粒建立了C57BL/6小鼠慢性HBV持续复制模型。40%小鼠血清HBsAg阳性持续6 mo以上, 肝脏病毒复制中间体、转录物、蛋白持续存在1年以上。我们前期研究^[5]已成功建立C57BL/6小鼠和I型干扰素受体敲除小鼠慢性HBV持续复制模型。本实验建立的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠HBV复制模型血清中HBsAg、HBeAg和HBV DNA第40天时呈100%阳性, 与对照组C57BL/6野生小鼠相同。因此, 我们成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV持续复制模型, 可利用此小鼠模型进一步研究IFN- γ 与HBV感染之间的关系。

IFN- γ 是人体感染HBV后重要的免疫应答细胞因子, 在慢性HBV感染的临床转归中起着重要作用。IFN- γ 在HBV清除中作用近年不断有报道, 如在急性自限性HBV感染患者中, 由T淋

巴细胞分泌的IFN- γ 高水平表达, 在HBV清除中起着相当重要的作用^[6]。IFN- γ 能抑制HBV的复制, 从而直接降低病毒的复制水平^[7-10]。Khanizadeh等^[11]通过分析200例慢性HBV感染者和200例健康对照者外周血样本中IFN- γ 受体1基因单个核苷酸多态性, 发现IFN- γ 受体1基因中第611位为G等位基因者对HBV感染是低风险的, 而第56位为T等位基因者发生慢性HBV感染的风险明显增高。通过IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠和IFN- α/β 受体敲除小鼠研究发现细胞因子IFN- γ 与IFN- α/β 均在控制HBV及其他嗜肝病毒感染中发挥抗病毒效应^[12]。最近研究^[13]显示, 激活的细胞毒性T淋巴细胞增加, 以及肝组织中IFN- γ 、CXCL9和CXCL10表达水平上调有助于持续感染的HBV清除。本研究以IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠与C57BL/6野生小鼠同时建立慢性HBV持续复制模型, 结果发现IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清中HBsAg表达水平从30 d后就高于C57BL/6野生小鼠, 至40 d时明显高表达, 而且血清HBV DNA复制水平亦明显高于C57BL/6野生小鼠, 然而血清中HBeAg表达水平两组无明显差别, 这可能与此动物模型的局限性有关, 血清中HBeAg表达水平并不与血清HBV DNA复制水平相一致。我们的结果更加直接地证实了IFN- γ 参与了慢性HBV感染过程, 明显抑制HBV复制。IFN- γ 抑制HBV复制或清除HBV的可能机制: 由病毒激活的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)表达IFN- γ , 通过非细胞裂解机制清除HBV以及诱导趋化因子CXCL9和CXCL10的表达, 后者通过募集抗原非特异性的单个核细胞, 导致肝脏炎性病变而清除病毒^[14,15]。干扰素刺激人体基因表达产生大量的抗病毒活性的蛋白或酶, 如黏病毒抗性

■ 创新盘点

本研究通过IFN- γ 基因敲除小鼠成功建立HBV持续复制小鼠模型, 运用定量酶联免疫法检测血清HBsAg和HBeAg表达, 以及运用定量PCR法检测血清HBV DNA, 更加直接阐明了IFN- γ 在慢性HBV感染中抑制HBV作用, 为IFN- γ 用于临床上抗HBV治疗提供了理论依据。

■应用要点

本研究建立的动物模型,证实了IFN- γ 在HBV感染中发挥着重要作用,但是IFN- γ 在HBV感染中清除或抑制病毒的作用机制不是很清楚。因此,本研究建立的IFN- γ 基因敲除小鼠HBV持续复制模型,为研究IFN- γ 与慢性HBV感染之间的关系提供了便利和实用的动物模型。

A(myxovirus resistance A, MxA)和干扰素可诱导双链核糖核酸依赖蛋白激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR),具有抑制HBV复制作用^[16]。一旦接合到他的受体时,干扰素就激活了下游Janus激酶-信号转导和转录激活因子(the Janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT)信号通路,生成两个转录因子,即干扰素- α 激活因子(IFN- α -activated factor, AAF)和干扰素刺激基因因子3(IFN-stimulated gene factor 3, ISGF3),最终导致了干扰素诱导的抗病毒基因表达和各类型的抗病毒蛋白产生,包括蛋白激酶、2'-5'寡腺苷酸合成酶(2',5'-oligoadenylate synthetase, OAS)和MxA^[17-19]。因此,IFN- γ 是机体内一个非常重要的免疫调节和效应因子,通过调节机体免疫反应和非细胞损伤机制在病毒复制和转录水平直接抑制肝细胞内HBV的复制,在机体抗HBV过程中发挥着重要作用。

总之,我们通过尾静脉高压水注射pAAV/ HBV1.2质粒方式成功建立IFN- γ ^{-/-}小鼠HBV持续复制模型,并初步阐明了IFN- γ 在HBV感染过程中起着相当重要的作用,具有抗HBV效应。该动物模型可用于进一步探索IFN- γ 与HBV感染之间的关系及其在抗HBV作用中的机制,亦为IFN- γ 用于临床上抗HBV治疗提供了理论依据。

4 参考文献

- Deng G, Zhou G, Zhai Y, Li S, Li X, Li Y, Zhang R, Yao Z, Shen Y, Qiang B, Wang Y, He F. Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004; 40: 318-326 [PMID: 15368436 DOI: 10.1002/hep.20318]
- Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 1999; 284: 825-829 [PMID: 10221919 DOI: 10.1126/science.284.5415.825]
- Billiau A. Interferon-gamma: biology and role in pathogenesis. *Adv Immunol* 1996; 62: 61-130 [PMID: 8781267]
- Huang LR, Wu HL, Chen PJ, Chen DS. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 17862-17867 [PMID: 17095599 DOI: 10.1073/pnas.0608578103]
- Chen MF, Lin Y, Xia YC, Sun C, Feng XM, Lu MJ, Yang DL, Wu J. Establishment and application of hepatitis B virus persistent replication model in IFNAR(-/-) mouse. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2013; 33: 392-397 [PMID: 23771666 DOI: 10.1007/s11596-013-1130-y]
- Penna A, Del Prete G, Cavalli A, Bertoletti A, D'Elia MM, Sorrentino R, D'Amato M, Boni C, Pilli

- M, Fiaccadori F, Ferrari C. Predominant T-helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 1997; 25: 1022-1027 [PMID: 9096614]
- Romero R, Lavine JE. Cytokine inhibition of the hepatitis B virus core promoter. *Hepatology* 1996; 23: 17-23 [PMID: 8550037]
- Bulat-Kardum L, Etokebe GE, Knezevic J, Balen S, Matakovic-Mileusnic N, Zaputovic L, Pavelic J, Beg-Zec Z, Dembic Z. Interferon-gamma receptor-1 gene promoter polymorphisms (G-611A; T-56C) and susceptibility to tuberculosis. *Scand J Immunol* 2006; 63: 142-150 [PMID: 16476014 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2005.01694.x]
- Matsuda A, Ebihara N, Kumagai N, Fukuda K, Ebe K, Hirano K, Sotozono C, Tei M, Hasegawa K, Shimizu M, Tamari M, Namba K, Ohno S, Mizuki N, Ikezawa Z, Shirakawa T, Hamuro J, Kinoshita S. Genetic polymorphisms in the promoter of the interferon gamma receptor 1 gene are associated with atopic cataracts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 583-589 [PMID: 17251453 DOI: 10.1167/iops.06-0991]
- Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, Kfir B, Sulkes J, Tambur AR, Tur-Kaspa R, Klein T. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 144-150 [PMID: 12526950 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07179.x]
- Khanizadeh S, Ravanshad M, Mohebbi SR, Naghoosi H, Abraham Tahaei M, Mousavi Nasab SD, Romani S, Azimzadeh P, Sanati A, Zali MR. Polymorphisms within the promoter region of the gamma interferon (IFN- γ) receptor1 gene are associated with the susceptibility to chronic HBV infection in an Iranian population. *Hepat Mon* 2012; 12: e7283 [PMID: 23300496 DOI: 10.5812/hepatmon.7283]
- McClary H, Koch R, Chisari FV, Guidotti LG. Relative sensitivity of hepatitis B virus and other hepatotropic viruses to the antiviral effects of cytokines. *J Virol* 2000; 74: 2255-2264 [PMID: 10666256 DOI: 10.1128/JVI.74.5.2255-2264.2000]
- Chen SH, Wu HL, Kao JH, Hwang LH. Persistent hepatitis B viral replication in a FVB/N mouse model: impact of host and viral factors. *PLoS One* 2012; 7: e36984 [PMID: 22615863 DOI: 10.1371/journal.pone.0036984]
- Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 23-61 [PMID: 18039107 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230]
- Iannaccone M, Sitia G, Ruggeri ZM, Guidotti LG. HBV pathogenesis in animal models: recent advances on the role of platelets. *J Hepatol* 2007; 46: 719-726 [PMID: 17316876 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.01.007]
- Wei X S, Zhang PA, Ye FL, Li Y, Deng B. The influence of polymorphisms in the MxA promoter and the eIF-2 α regulatory region 2 on the natural outcome of HBV infection. *Hereditary Genet* 2012; 1: 106 [DOI: 10.4172/2161-1041.1000106]
- Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, Hennig BJ, Hellier S, Zhang L, Wright M, Chiaramonte M, Graves M, Thomas HC, Hill AV, Thursz MR. Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR. *Genes Immun* 2003; 4: 411-419 [PMID: 12944978]

- DOI: 10.1038/sj.gene.6363984]
- 18 García MA, Gil J, Ventoso I, Guerra S, Domingo E, Rivas C, Esteban M. Impact of protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; 70: 1032-1060 [PMID: 17158706 DOI: 10.1128/MMBR.00027-06]
- 19 Pletneva LM, Haller O, Porter DD, Prince GA, Blanco JC. Interferon-inducible Mx gene expression in cotton rats: cloning, characterization, and expression during influenza viral infection. *J Interferon Cytokine Res* 2006; 26: 914-921 [PMID: 17238834 DOI: 10.1089/jir.2006.26.914]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



■同行评价

本研究利用 *IFN- γ* 基因敲除 C57BL/6 小鼠建立了慢性乙型肝炎病毒复制模型, 结果显示 *IFN- γ* 对 HBV 的复制有一定干扰作用。该模型为研究 HBV 感染及其慢性化与免疫应答特别是 *IFN- γ* 相关的免疫应答的关系以及设计 HBV 感染的免疫干预方案具有较大意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

分泌型卷曲相关蛋白1基因异常甲基化对食管鳞癌的影响

刘畅, 李楠, 陆恒, 吴琳, 袁柏思, 汪芳裕

■背景资料

随着表观遗传学的研究发展, 越来越多的证据表明DNA异常甲基化与食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)发生发展关系密切。

刘畅, 李楠, 陆恒, 吴琳, 袁柏思, 汪芳裕, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科 江苏省南京市 210002
刘畅, 在读博士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的早期诊断和治疗以及分子流行病学研究。

南京军区南京总医院院管基金资助项目, No. 2011052

作者贡献分布: 此课题由刘畅与汪芳裕设计; 研究过程由刘畅、李楠、陆恒及吴琳操作完成; 数据分析由刘畅与袁柏思完成; 本论文写作由刘畅完成。

通讯作者: 汪芳裕, 教授, 主任医师, 210002, 江苏省南京市中山东路305号, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科。
wangf65@yahoo.com

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-15

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-08

Clinical significance of secreted frizzled-related protein 1 gene promoter hypermethylation in esophageal squamous cell carcinoma

Chang Liu, Nan Li, Heng Lu, Lin Wu, Bo-Si Yuan, Fang-Yu Wang

Chang Liu, Nan Li, Heng Lu, Lin Wu, Bo-Si Yuan, Fang-Yu Wang, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Foundation of Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, No. 2011052

Correspondence to: Fang-Yu Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 305 East Zhongshan Road, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. wangf65@yahoo.com

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-15

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To study the correlation between secreted frizzled-related protein 1 (*SFRP1*) gene promoter hypermethylation and clinicopathological features of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: Twenty-two patients with ESCC and 22 patients with benign esophageal diseases were included in this study. DNA was extracted from peripheral blood. Promoter methylation

status of the *SFRP1* gene was determined by methylation-specific polymerase chain reaction (MSP), and its correlation with clinicopathological parameters of ESCC was analyzed.

RESULTS: The positive rate of *SFRP1* gene promoter methylation was significantly higher in ESCC patients than in controls (36.4% vs 9.1%, $P < 0.05$). *SFRP1* gene hypermethylation was not correlated with clinicopathological parameters or carcino-embryonic antigen levels in ESCC patients (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: *SFRP1* gene promoter hypermethylation may be involved in the occurrence of ESCC, and *SFRP1* may be used as a new marker for ESCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Secreted frizzled-related protein 1; Methylation

Liu C, Li N, Lu H, Wu L, Yuan BS, Wang FY. Clinical significance of secreted frizzled-related protein 1 gene promoter hypermethylation in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3400-3404 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3400.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3400>

摘要

目的: 研究分泌型卷曲相关蛋白1(secreted frizzled-related protein 1, *SFRP1*)基因启动子区与食管鳞癌的相关性。

方法: 选取食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者22例为实验组, 另同期选取食管良性病变者22例为对照组, 提取术前外周血DNA, 利用甲基化特异性PCR法(MSP)检测*SFRP1*基因启动子区域甲基化状态, 并分析其与临床病理参数的相关性。

结果: 在22例食管鳞癌患者中其甲基化阳性例数为8例, 甲基化阳性率为36.4%, 在22例食管良性病变者中其甲基化阳性例数为2

■同行评议者

喻春钊, 教授, 主任医师, 南京医科大学第二附属医院普通外科九区

例, 甲基化阳性率为9.1% ($P < 0.05$). *SFRP1* 基因甲基化与患者临床病理参数及癌胚抗原 (carcino-embryonic antigen, CEA) 水平无相关性 ($P > 0.05$).

结论: 血清*SFRP1*基因启动子区异常甲基化可能参与食管鳞癌的发生, 有望成为食管鳞癌临床诊断的新型辅助指标.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管鳞癌; 分泌型卷曲相关蛋白1; 甲基化

核心提示: 本文研究了血浆中Wnt通路拮抗因子分泌型卷曲相关蛋白1 (secreted frizzled-related protein 1, *SFRP1*) 基因甲基化与食管鳞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 的相关性, 对进一步指导早期筛查ESCC和研发新型抗肿瘤药物提供了一个新的靶向.

刘畅, 李楠, 陆恒, 吴琳, 袁柏思, 汪芳裕. 分泌型卷曲相关蛋白1基因异常甲基化对食管鳞癌的研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3400-3404 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3400.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3400>

0 引言

食管鳞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 是我国常见恶性肿瘤, 临床上早期症状不典型, 患者确诊时多属中晚期. 目前, ESCC 早期诊断主要依靠内镜检查, 寻找一种更为便捷且敏感的血清肿瘤标志物显得尤为迫切. Wnt/ β -catenin 信号转导通路是调控细胞增殖生长的重要途径之一, 该通路的异常激活参与人类多种肿瘤的发生. 分泌型卷曲相关蛋白1 (secreted frizzled-related protein 1, *SFRP1*) 作为新近发现的 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的拮抗剂, 其表达下调可减弱对通路的抑制作用从而使得通路异常活化, 促进肿瘤的发生发展^[1]. 研究显示, *SFRP1* 基因启动子区5'端CpG岛高甲基化可能是其表达下调的重要机制^[2]. 本研究采用甲基化特异性PCR (MSP) 技术, 检测ESCC患者外周血*SFRP1*基因启动子区甲基化状态, 探讨其在ESCC中的意义, 以期对ESCC患者的早期筛查工作提供新的辅助指标.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-04/2012-12在我科住院的22例ESCC患者术前血清标本作为实验组, 所有患

者均经内镜下活检病理确诊为鳞癌, 并未行放疗和化疗. 同期选取食管良性病变 (食管炎、息肉、腺瘤等) 患者的血清标本作为对照组.

1.2 方法

1.2.1 血清标本收集: 抽取清晨空腹静脉血5 mL, 促凝管收集, 3000 r/min, 离心10 min, 吸取上清液约2 mL, -80 °C 冰箱保存.

1.2.2 外周血DNA提取: 采用DNA抽提Kit试剂盒 (AXYGEN公司) 提取血清DNA, 紫外分光光度计测吸光度值, 确定其浓度与纯度. 提取的DNA于-20 °C 条件下保存备用.

1.2.3 甲基化修饰: 取1 μ g DNA采用亚硫酸盐转化试剂盒 (Sigma公司) 进行硫化修饰. 经此步骤后单链DNA的未甲基化胞嘧啶转变为尿嘧啶, 而甲基化胞嘧啶则不能被修饰. 修饰好的DNA用于MSP或-20 °C 保存.

1.2.4 甲基化特异性PCR: MSP引物设计采用MethPrimer软件 (网址为<http://www.urogene.org/methprimer/>), 根据在线软件设计结果与多个参考文献^[3-5]比较, 最后采用来自多个参考文献的引物序列, *SFRP1* 基因MSP甲基化上游引物: 5'-GTTTTTCGGAGTTAGTGTCTCGCGC-3', 甲基化下游引物: 5'-ACGATCGAAAACGACGCGAACG-3'; 非甲基化上游引物: 5'-GTAGTTTTTGGAGTTAGTGTGTGTGT-3', 非甲基化下游引物: 5'-ACCTACAATCAAAAA-CAACACAAACA-3', 由上海英骏生物技术有限公司合成. PCR反应体系为Gold 360 Master Mix 6.25 μ L, DNA 模版3.25 μ L, 上游引物P1 0.5 μ L, 下游引物P2 0.5 μ L, ddH₂O 2.0 μ L, 共12.5 μ L. 反应条件: 94 °C 预变性2 min, 94 °C 变性30 s, 58 °C 退火30 s, 72 °C 延伸45 s, 共38个循环, 最后72 °C 延伸7 min. 取扩增产物行2%琼脂糖凝胶电泳 (电压160 V, 电泳时间2 h), 凝胶成像系统拍照.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行数据分析. 率的比较采用Pearson χ^2 检验, 当样本总例数 <40 时, 采用Fisher确切概率法, 以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清*SFRP1*基因启动子区甲基化状态 实验组*SFRP1*基因甲基化阳性例数为8例, 甲基化检出率为36.4%, 而对照组只有2例发生甲基化, 检出率为9.1%, 两者差异有统计学意义 ($P = 0.031$, 图1).

2.2 血清*SFRP1*甲基化与临床病理参数关系 血清*SFRP1*基因启动子区高甲基化与ESCC患者的年

■ 研发前沿

ESCC早期临床症状不典型, 敏感的血清肿瘤分子标志物缺乏, 寻找一种较为便捷且敏感的血清肿瘤标志物有望为患者的早期监测及预后带来新的希望.

■相关报道

Liu等研究表明, *SFRP1* 基因异常甲基化状态与 ESCC 术后复发风险呈显著相关性, 血浆中 *SFRP1* 启动子区高甲基化状态可作为肿瘤的一个非侵袭性生物预测标记。

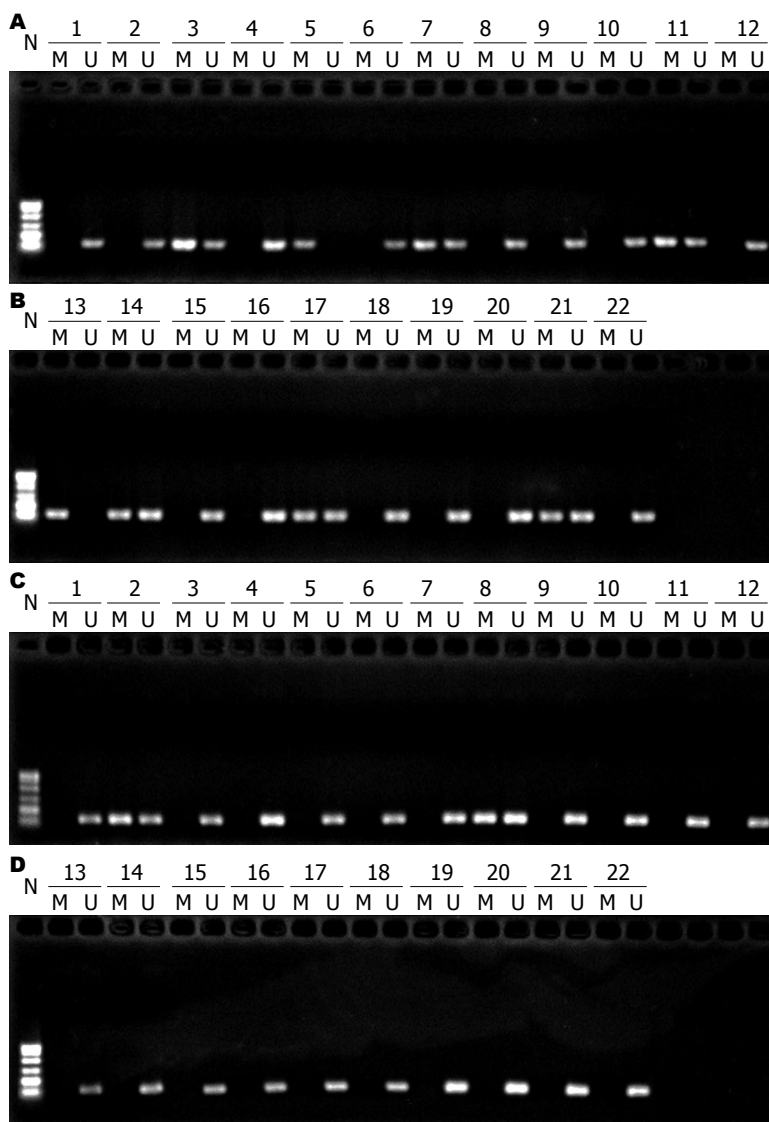


图 1 *SFRP1* 启动子甲基化检测. A: ESCC 患者 1-12; B: ESCC 患者 13-22; C: 对照组 1-12; D: 对照组 13-22. N: Marker; M: 甲基化; U: 未甲基化.

龄、性别、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期及血清 CEA 水平均无相关性 ($P > 0.05$, 表 1).

3 讨论

Wnt 细胞信号转导通路调控着细胞增殖、分化、凋亡等诸多生命过程, 该通路的异常激活与人类多种肿瘤的发生发展密切相关^[6,7]. Wnt 蛋白在胞膜上与一种卷曲蛋白 (frizzled, Frz) 的 7 次跨膜受体相结合是 Wnt 信号转导通路活化的重要起始信号. 定位于染色体 8p12-11.1^[8] 上的 SFRPs 属分泌型糖蛋白家族, 由 *SFRP* 基因编码, 有 300 个氨基酸残基, 包括一个同源的 N2 末端半胱氨酸富集区和一个 C2 末端^[9], 结构上与 Frz 受体极为相似, 具有同源配体抑制区, 通过竞争性抑制 Frz 受体而抑制 Wnt 信号的表达^[10]. 其中 *SFRP1* 由定位于 8p11.2 的 *SFRP1* 基因编码, 该位点在多种肿瘤中存在缺失现象, *SFRP1* 基因作为

Wnt 信号拮抗剂, 发挥着抑癌基因的功能. 马传香等^[11] 检测了 60 例 ESCC 组织中 *SFRP1* 的表达, 结果阳性表达率为 25.0%, 显著低于癌旁正常组织, 并且 *SFRP1* 的表达与临床病理因素无相关性, 提示 *SFRP1* 在 ESCC 的发生发展中起一定作用. Liu 等^[12] 对 81 例 ESCC 患者血浆中 *SFRP1* 启动子区甲基化状态的检测及分析其与术后 2 年肿瘤复发率关系的研究表明, *SFRP1* 高甲基化状态与 ESCC 术后复发风险呈显著相关性, 提示血浆中 *SFRP1* 启动子区高甲基化状态可作为肿瘤的一个非侵袭性生物预测标记.

影响基因转录活性而不涉及改变 DNA 序列的基因表达调控称为表观遗传调控, DNA 甲基化是表观遗传调控的常见方式, 高甲基化将导致抑癌基因表达下调甚至基因沉默, 从而促进肿瘤的发生发展. DNA 甲基化在恶性肿瘤的诊断、化疗疗效预测和疾病预后评估等方面的应

表 1 *SFRP1*基因甲基化状态与食管鳞癌患者临床病理参数的关系

临床病理参数	<i>n</i>	<i>SFRP1</i> 基因甲基化状态		甲基化率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
		M	U			
年龄(岁)					0.909	0.342
<60	8	3	5	37.5		
≥60	14	5	9	35.7		
性别					1.989	0.158
男	18	7	11	38.9		
女	4	1	3	25.0		
分化程度					0.263	0.608
高/中分化	16	6	10	37.5		
低/未分化	6	2	4	33.3		
浸润深度					0.133	0.715
未及外膜	4	1	3	25.0		
侵及外膜	18	7	11	38.9		
淋巴结转移					2.134	0.148
有	8	2	6	25.0		
无	14	6	8	42.9		
TNM分期					2.476	0.116
I/II期	10	4	6	40.0		
II/III期	12	4	8	33.3		
CEA(ng/mL)					1.686	0.198
>9.7	3	2	1	66.7		
<9.7	19	6	13	31.6		

SFRP1: 分泌型卷曲相关蛋白1; CEA: 癌胚抗原.

用已引起广泛重视,发生DNA甲基化的肿瘤比基因突变、遗传性损伤所致的肿瘤更容易纠正,经去甲基化治疗恢复抑癌基因的表达状态,继而达到抑制肿瘤发生发展的目的,这已被认为是极有潜力的肿瘤基因治疗的新手段^[13].

肿瘤患者外周血中循环DNA含量远高于正常人,且循环DNA具有肿瘤特征性的基因改变,可作为恶性肿瘤的诊断和监测指标^[14].因DNA甲基化状态的变化常发生在遗传学改变之前^[15],故早期检测到抑癌基因启动子区域(CpG岛)甲基化状态变化可作为肿瘤发生初期的一个重要依据.本研究应用MSP法检测了ESCC患者术前血清标本和对照的食管良性疾病血清标本中*SFRP1*基因CpG岛甲基化状态,结果显示,ESCC组*SFRP1*基因甲基化率显著高于食管良性疾病组($P<0.05$),这种基因的高甲基化状态可能导致基因沉默,使得*SFRP1*的表达下调或缺失,其拮抗Wnt通路的功能降低.同时,本研究发现*SFRP1*基因甲基化状态与患者临床病理参数之间无相关性($P>0.05$),提示*SFRP1*的高甲基化状态在ESCC的发生和恶性表型的维持中起一

定作用.然而,本研究所取样本例数偏少,且未对*SFRP1*及Wnt家族中的成员如Wnt-1等的表达情况进行检测,尚缺乏足够证据指明*SFRP1*在ESCC发生发展中的规律.但本研究仍从表观遗传机制角度显示出*SFRP1*这种抑癌基因的表现遗传学失活可能是ESCC发生的早期事件之一.

总之,血清*SFRP1*基因启动子区异常甲基化可能参与ESCC的发生发展,并为疾病的早期监测提供可能的分子理论依据,有望成为ESCC临床诊断的新型辅助指标.

4 参考文献

- 1 Yamamoto H. [Regulation of Wnt signaling pathway and its relationship with tumorigenesis]. *Seikagaku* 2008; 80: 1079-1093 [PMID: 19172789]
- 2 Fukui T, Kondo M, Ito G, Maeda O, Sato N, Yoshioka H, Yokoi K, Ueda Y, Shimokata K, Sekido Y. Transcriptional silencing of secreted frizzled related protein 1 (SFRP 1) by promoter hypermethylation in non-small-cell lung cancer. *Oncogene* 2005; 24: 6323-6327 [PMID: 16007200 DOI: 10.1038/sj.onc.1208777]
- 3 Veeck J, Niederacher D, An H, Klopocki E, Wiesmann F, Betz B, Galm O, Camara O, Dürst M, Kristiansen G, Huszka C, Knüchel R, Dahl E. Aberrant

■同行评议

本文设计合理,内容清晰,数据充实,结论可信,有利于对ESCC的表观遗传学机制有更深入的认识,对ESCC的早期监测及靶向治疗有一定的指导意义.

- methylation of the Wnt antagonist SFRP1 in breast cancer is associated with unfavourable prognosis. *Oncogene* 2006; 25: 3479-3488 [PMID: 16449975 DOI: 10.1038/sj.onc.1209386]
- 4 Urakami S, Shiina H, Enokida H, Kawakami T, Kawamoto K, Hirata H, Tanaka Y, Kikuno N, Nakagawa M, Igawa M, Dahiya R. Combination analysis of hypermethylated Wnt-antagonist family genes as a novel epigenetic biomarker panel for bladder cancer detection. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2109-2116 [PMID: 16609023 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2468]
- 5 董稚明, 王馥丽, 靳国梁, 郭炜, 郭艳丽, 王士杰. Wnt拮抗基因SFRP1、SFRP2启动子区甲基化与贲门腺癌关系的研究. *肿瘤研究与临床* 2009; 21: 799-802
- 6 王震凯, 朱人敏. Wnt信号转导通路在肿瘤中的研究进展. *医学研究生学报* 2007; 20: 1294-1297, 1301
- 7 周凯, 周文泉. Wnt信号通路抑制因子SFRPs在肿瘤发生发展中的研究进展. *医学研究生学报* 2012; 25: 997-1001
- 8 Stoehr R, Wissmann C, Suzuki H, Knuechel R, Krieg RC, Klopocki E, Dahl E, Wild P, Blaszyk H, Sauter G, Simon R, Schmitt R, Zaak D, Hofstaedter F, Rosenthal A, Baylin SB, Pilarsky C, Hartmann A. Deletions of chromosome 8p and loss of sFRP1 expression are progression markers of papillary bladder cancer. *Lab Invest* 2004; 84: 465-478 [PMID: 14968126 DOI: 10.1038/labinvest.3700068]
- 9 Hsieh M, Mulders SM, Friis RR, Dharmarajan A, Richards JS. Expression and localization of secreted frizzled-related protein-4 in the rodent ovary: evidence for selective up-regulation in luteinized granulosa cells. *Endocrinology* 2003; 144: 4597-4606 [PMID: 12960062 DOI: 10.1210/en.2003-0048]
- 10 Enomoto-Iwamoto M, Kitagaki J, Koyama E, Tamamura Y, Wu C, Kanatani N, Koike T, Okada H, Komori T, Yoneda T, Church V, Francis-West PH, Kurisu K, Nohno T, Pacifici M, Iwamoto M. The Wnt antagonist Frzb-1 regulates chondrocyte maturation and long bone development during limb skeletogenesis. *Dev Biol* 2002; 251: 142-156 [PMID: 12413904 DOI: 10.1006/dbio.2002.0802]
- 11 马传香, 王美红, 张式暖, 刘慧荣. 食管鳞状细胞癌中SFRP1、Wnt-1的表达及临床意义. *实用医学杂志* 2011; 27: 1959-1961
- 12 Liu JB, Qiang FL, Dong J, Cai J, Zhou SH, Shi MX, Chen KP, Hu ZB. Plasma DNA methylation of Wnt antagonists predicts recurrence of esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4917-4921 [PMID: 22171134 DOI: 10.3748/wjg.v17.i44.4917]
- 13 Dehan P, Kustermans G, Guenin S, Horion J, Bonivier J, Delvenne P. DNA methylation and cancer diagnosis: new methods and applications. *Expert Rev Mol Diagn* 2009; 9: 651-657 [PMID: 19817550 DOI: 10.1586/erm.09.53]
- 14 Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, Knippers R. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res* 2001; 61: 1659-1665 [PMID: 11245480]
- 15 Kim HC, Roh SA, Ga IH, Kim JS, Yu CS, Kim JC. CpG island methylation as an early event during adenoma progression in carcinogenesis of sporadic colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1920-1926 [PMID: 16336454 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.03943.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



经上腹正中切口入路治疗食管胃结合部腺癌的临床疗效

朱松明, 陆善伟, 张捷, 龚庆豪

朱松明, 张捷, 龚庆豪, 上海交通大学医学院附属新华医院
崇明分院普外科 上海市 202150

陆善伟, 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院胸外科
上海市 202150

朱松明, 主任医师, 主要从事外科临床的研究。

作者贡献分布: 本文主要由朱松明完成; 陆善伟、张捷及龚庆豪
参与协助。

通讯作者: 朱松明, 主任医师, 202150, 上海市崇明县城桥镇南
门路25号, 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院普外科。
472316628@qq.com

电话: 021-69692702

收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-10-14

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-08

Different surgical approaches for adenocarcinoma of the esophagogastric junction

Song-Ming Zhu, Shan-Wei Lu, Jie Zhang,
Qing-Hao Gong

Song-Ming Zhu, Jie Zhang, Qing-Hao Gong, Department of Surgery, Xinhua Hospital (Chongming), Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 202150, China

Shan-Wei Lu, Thoracic Surgery, Xinhua Hospital (Chongming), Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 202150, China

Correspondence to: Song-Ming Zhu, Chief Physician, Department of Surgery, Xinhua Hospital (Chongming), Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 25 South Gate Road, Shanghai Chongming County, Shanghai 202150, China. 472316628@qq.com

Received: 2013-09-02 Revised: 2013-10-14

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effects of different surgical approaches for adenocarcinoma of the esophagogastric junction (AEG).

METHODS: One hundred and fifty AEG patients were randomly divided into either an experimental group or a control group. The experimental group underwent surgery via a transabdominal approach, while the control group was treated via a transthoracic approach. The operation situation, postoperative pathology and complications were compared between the two groups.

RESULTS: There were significant differences in

mean operative time ($187.42 \text{ min} \pm 48.47 \text{ min}$ vs $225.79 \text{ min} \pm 83.98 \text{ min}$), mean blood loss ($128.09 \text{ mL} \pm 48.95 \text{ mL}$ vs $208.01 \text{ mL} \pm 70.12 \text{ mL}$), number of paraesophageal lymph nodes (0.18 ± 0.67 vs 0.18 ± 0.67), number of cleared lymph nodes (12.71 ± 7.19 vs 8.20 ± 5.31), number of lymph nodes in the lesser curvature (6.51 ± 3.09 vs 1.72 ± 1.83), number of paraesophageal lymph nodes (12 vs 44), and number of cleared lymph nodes in the lesser curvature (330 vs 102) between the experimental group and control group (All $P < 0.05$). No significant difference was noted in the rate of positive margins (14.66% vs 10.66% , $P > 0.05$) between the two groups. The rate of positive curvature lymph nodes in the lesser curvature was significantly higher than that in the periesophagus in both groups (75.76% vs 11.11% , 66.04% vs 22.73%). No anastomotic fistula occurred in either group, although the complication rate was lower in the experimental group than in the control group (2.67% vs 14.67% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Transabdominal surgery can clear more lymph nodes than transthoracic surgery. Total gastrectomy does better in the clearance of perigastric lymph nodes, especially those in the lesser curvature.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adenocarcinoma of esophagogastric junction; Transabdominal approach; Transthoracic approach; Clinical curative effect

Zhu SM, Lu SW, Zhang J, Gong QH. Different surgical approaches for adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3405-3408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3405.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3405>

摘要

目的: 探讨经上腹正中切口入路治疗食管胃结合部腺癌临床疗效。

方法: 将我院收治的150例食管胃结合部腺癌

■背景资料

食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)是指在食管胃结合部也就是食管末段和近侧胃相连接部位贲门远近各5 cm区域内的恶性肿瘤。目前,国内并未实现将胃镜检查列入常规健康体检标准内容中,因此AEG检出率明显低于西方发达国家。这种现状直接导致多数患者感受到明显不适症状前来就诊时病情已经发展至进展期,失去了早期根治治疗的最佳时机。

■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

■相关报道

部分学者指出,内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)在早期AEG临床治疗上展现出了创伤小、术中出血少、患者痛苦小、术后恢复时间短等明显优势。

患者随机均分为实验组和对照组,实验组患者经上腹正中切口入路;对照组患者经左侧第7肋间后外侧切口入路。观察两组患者手术情况、术后病理及术后并发症发生情况。

结果: 实验组平均手术时间($187.42 \text{ min} \pm 48.47 \text{ min}$ vs $225.79 \text{ min} \pm 83.98 \text{ min}$)、术中平均出血量($128.09 \text{ mL} \pm 48.95 \text{ mL}$ vs $208.01 \text{ mL} \pm 70.12 \text{ mL}$)及食管周围淋巴结个数(0.18 ± 0.67 vs 0.18 ± 0.67)均明显低于对照组,差异具有显著性($P < 0.05$);实验组清扫淋巴结总数(12.71 ± 7.19 vs 8.20 ± 5.31)、小弯侧淋巴结个数(6.51 ± 3.09 vs 1.72 ± 1.83)及食管旁淋巴结清扫数(12 vs 44)均明显低于对照组,小弯侧淋巴结清扫数(330 vs 102)明显高于对照组,差异具有显著性($P < 0.05$);两组患者手术切口阳性率(14.66% vs 10.66%)比较差异无统计学意义($P > 0.05$);两组患者小弯侧阳性率(75.76% vs 11.11% , 66.04% vs 22.73%)均明显高于食管旁阳性率,差异具有显著性($P < 0.05$);两组患者术后均无1例发生吻合口瘘,实验组并发症总发生率(2.67% vs 14.67%)明显低于对照组,差异具有显著性($P < 0.05$)。

结论: 经腹入路手术对胃周淋巴结清扫更为彻底,全胃切除术对小弯侧淋巴结清扫更为彻底,在进行手术路径选择时需要结合患者病灶实际情况以及患者体质合理选择,提高预后效果。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管胃结合部腺癌; 经胸入路; 经腹入路; 临床疗效

核心提示: 本研究试验组患者经上腹正中切口入路,对照组患者经左侧第7肋间后外侧切口入路。观察两组患者手术情况、术后病理及术后并发症发生情况。得出结论,经腹入路手术对胃周淋巴结清扫更为彻底,全胃切除术对小弯侧淋巴结清扫更为彻底,在进行手术路径选择时需要结合患者病灶实际情况以及患者体质合理选择,提高预后效果。

朱松明, 陆善伟, 张捷, 龚庆豪. 经上腹正中切口入路治疗食管胃结合部腺癌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3405-3408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3405.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3405>

0 引言

食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)是指在食管胃结合部也

就是食管末段和近侧胃相连接部位贲门远近各5 cm区域内的恶性肿瘤^[1]。传统观点将该部位的恶性肿瘤划分为下段食管癌或胃癌,但临床研究证实其余食管癌或胃癌均存在较大差异。AEG早期治疗与食管癌和胃癌相同,均为外科手术根治治疗,但AEG所处解剖部位较为特殊,因此手术入路方式也较多。现对我院实施手术治疗的AEG患者临床资料进行回顾性分析,探讨不同手术入路的临床疗效,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2007-03/2013-03收治的150例AEG患者作为研究对象,所有患者均符合AEG临床诊断标准^[2],且经胃镜活检及手术病理检查确诊,并参照美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)癌症分期手册进行AEG分型^[3]。将150例患者随机均分为实验组和对照组,两组患者在性别、年龄、AEG分型及治疗方式选择等差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性(表1)。

1.2 方法

1.2.1 手术过程: 实验组采取经腹手术,选取上腹正中切口入路;对照组采取经左胸手术,选取左侧第7肋间后外侧切口入路^[4]。两组患者均根据常规检查结果选择最佳术式治疗,所有术式均按照常规临床操作规范进行。

1.2.2 观察指标: 观察两组患者手术情况(手术时间、术中出血量)、术后病理(清扫淋巴结总数、转移淋巴结个数、小弯侧及食管周围淋巴结个数以及阳性率,不同上切缘长度阳性率(阳性率 = 转移淋巴结例数/受检例数)^[5]及术后并发症发生情况(术后感染、吻合口瘘、吻合口出血、胸腔积液、肺部感染等)^[6]。

统计学处理 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理,差异性比较采用 t 检验,计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,计数资料比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术情况比较 实验组平均手术时间、术中平均出血量及食管周围淋巴结个数均明显低于对照组,差异具有显著性($P < 0.05$);实验组清扫淋巴结总数和小弯侧淋巴结个数均明显低于对照组,差异具有显著性($P < 0.05$)(表2)。

2.2 两组患者不同上切缘长度阳性率比较 两组

表 1 两组患者临床资料比较 [$n = 75, n(\%)$]

项目	实验组	对照组
性别		
男	57(76.00)	59(78.67)
女	18(24.00)	16(21.33)
平均年龄(岁)	61.38 ± 7.52	60.06 ± 7.87
AEG分型		
Ⅱ型	42(56.00)	23(30.67)
Ⅲ型	33(44.00)	52(69.33)
治疗方式		
食管及胃切除术		
单纯食管及胃切除术	43(57.33)	42(56.00)
合并膈肌部分切除	4(5.33)	3(4.00)
合并脾切除	1(1.33)	2(2.67)
合并肝脏部分切除	2(2.67)	3(4.00)
全胃切除术		
单纯全胃切除术	13(17.33)	12(16.00)
合并脾切除	2(2.67)	3(4.00)
合并肝脏部分切除	1(1.33)	2(2.67)
其他	9(12.00)	8(10.67)

表 2 两组患者手术情况比较 ($n = 75, \text{mean} \pm \text{SD}$)

项目	实验组	对照组
平均手术时间(min)	187.42 ± 48.47 ^a	225.79 ± 83.98
术中平均出血量(mL)	128.09 ± 48.95 ^a	208.01 ± 70.12
平均切除长度(cm)	5.32 ± 4.19	6.07 ± 3.48
清扫淋巴结总数	12.71 ± 7.19 ^b	8.20 ± 5.31
小弯侧淋巴结个数	6.51 ± 3.09 ^b	1.72 ± 1.83
食管周围淋巴结个数	0.18 ± 0.67 ^b	0.69 ± 1.05

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

患者手术切口阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

2.3 两组患者清扫食管旁及小弯侧淋巴结比较 实验组患者小弯侧淋巴结清扫数明显高于对照组, 食管旁淋巴结清扫数明显低于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$); 两组患者小弯侧阳性率均明显高于食管旁阳性率, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表4).

2.4 两组患者术后并发症发生情况比较 两组患者术后有3例发生吻合口瘘, 实验组并发症总发生率明显低于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表5).

3 讨论

AEG发病机制主要包括两个, 其一是胃食管反

表 3 两组患者不同上切缘长度阳性率比较 [$n = 75, n(\%)$]

项目	实验组	对照组
<3 cm		
阳性	6(8.00)	4(5.33)
阴性	35(46.67)	8(10.67)
3–5 cm		
阳性	4(5.33)	3(4.00)
阴性	14(18.67)	33(44.00)
>5 cm		
阳性	1(1.33)	1(1.33)
阴性	15(20.00)	26(34.67)

表 4 两组患者清扫食管旁及小弯侧淋巴结比较 ($n = 75$)

项目	实验组		对照组	
	食管旁	小弯侧	食管旁	小弯侧
阳性数	1	244	10	59
清扫数	12 ^a	330 ^b	44	102
转移度(%)	9.33	73.33	24.00	57.33
阳性例	1	50	5	35
受检例	9	66	22	53
阳性率(%)	11.11	75.76 ^d	22.73	66.04 ^d

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 食管旁.表 5 两组患者术后并发症发生情况比较 [$n = 75, n(\%)$]

并发症	实验组	对照组
吻合口瘘	2(2.67)	1(1.33)
吻合口出血	0(0)	1(1.33)
左侧胸腔积液	0(0)	6(8.00)
肺部感染	2(2.67)	3(4.00)
左侧腋胸并肺不张	0(0)	1(1.33)
总发生率(%)	2.67 ^a	14.67

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

流性疾病导致食管内上皮细胞受损, 致使食管黏液腺内多功能肝细胞向柱状上皮细胞转变, 进而引发癌变. 其二是慢性萎缩性胃炎导致的慢性肠上皮化生或异型性增生而引发胃腺癌病变^[7]. 目前, 国内并未实现将胃镜检查列入常规健康体检标准内容中, 因此AEG检出率明显低于西方发达国家. 这种现状直接导致多数患者感受到明显不适症状前来就诊时病情已经发展至进展期, 失去了早期根治治疗的最佳时机^[8].

部分学者指出, 内镜下黏膜切除术(endo-

■应用要点

临床医师一般还是选择传统开放手术实施治疗, 但需要根据患者不同肿瘤类型和治疗目的等情况选择最佳入路方式.

■同行评价

本研究选题新颖, 结果可信, 手术方法值得临床医师参考。

scopic mucosal resection, EMR)在早期AEG临床治疗上展现出了创伤小、术中出血少、患者痛苦小、术后恢复时间短等明显优势^[9]。尤其适用于耐受性较差或伴有严重并发症的老年患者。但EMR在实际临床应用中局限性也较为明显, 其主要适用于早期并未发生淋巴结转移的患者, 需在保证病理切缘为阴性的情况下达到根治的目的。主要是由于EMR不能进行淋巴结清扫, 也无法探查患者腹腔准确情况, 术中切除过大易损伤大血管造成难以控制的出血, 需要采取开腹手术进行止血, 操作不仅麻烦, 而且危险性较高^[10]。而内镜若切除过深则易导致胃穿孔等不良情况, 需实施穿孔修补术。因此, 临床医师一般还是选择传统开放手术实施治疗。但需要根据患者不同肿瘤类型和治疗目的等情况选择最佳入路方式^[11]。

AEG的转移方式包括直接浸润、血运转移、淋巴转移及种植转移集中, 因此完整切除肿瘤和区域淋巴结彻底清扫是根治AEG的关键^[12]。临床研究表明, 左胸入路治疗食管胃结合部腺癌发现该路径能够在相对较长的食管切除中具有明显优势, 能够彻底清扫食管旁的淋巴结^[13]。但术中缺乏对腹部病变组织的暴露, 难以进行全胃及相关脏器联合切除和相对应的淋巴清扫。而经腹组在实施贲门旁淋巴结清扫时操作较为困难, 对临床医师操作水平要求较高^[14]。本研究中实验组患者小弯侧淋巴结清扫数明显高于对照组, 食管旁淋巴结清扫数明显低于对照组, 也证实了这一点。另外, 经胸入路患者术中出血较多, 手术时间也较长, 术后并发症发生率也较高, 因此临床效果不如经腹入路^[15]。

总之, 经腹入路手术对胃周淋巴结清扫更为彻底, 全胃切除术对小弯侧淋巴结清扫更为彻底, 在进行手术路径选择时需要结合患者病灶实际情况以及患者体质合理选择, 提高预后效果。

4 参考文献

- 1 李向柯, 樊青霞. 食管癌药物治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 79-84
- 2 陈克能, 徐光伟. 食管癌的诊断和治疗. 世界华人消化杂志 2000; 8: 195-202
- 3 钟丽, 廖家智, 王颖, 程斌. 内镜超声在食管癌术前TN分期中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2258-2261
- 4 于兆澎. 食管胃结合部腺癌手术治疗不同手术入路的临床分析. 山东大学, 2012
- 5 Kim JH, Park SS, Kim J, Boo YJ, Kim SJ, Mok YJ, Kim CS. Surgical outcomes for gastric cancer in the upper third of the stomach. *World J Surg* 2006; 30: 1870-1876; discussion 1870-1876 [PMID: 16957826]
- 6 所剑, 王大广, 夏明杰. 食管胃结合部腺癌手术入路合理选择. 中国实用外科杂志 2012; 33: 295-297
- 7 叶颖江, 王杉. 可切除食管胃结合部腺癌术式选择. 中国实用外科杂志 2012; 32: 283-287
- 8 Jeurnink SM, Steyerberg EW, Hof Gv, van Eijck CH, Kuipers EJ, Siersema PD. Gastrojejunostomy versus stent placement in patients with malignant gastric outlet obstruction: a comparison in 95 patients. *J Surg Oncol* 2007; 96: 389-396 [PMID: 17474082 DOI: 10.1002/jso.20828]
- 9 张少波. 105例食管胃结合部腺癌手术治疗分析. 广西医科大学, 2012
- 10 Hasegawa S, Yoshikawa T, Cho H, Tsuburaya A, Kobayashi O. Is adenocarcinoma of the esophagogastric junction different between Japan and western countries? The incidence and clinicopathological features at a Japanese high-volume cancer center. *World J Surg* 2009; 33: 95-103 [PMID: 18958523 DOI: 10.1007/s00268-008-9740-4]
- 11 杨琳, 朱玥璐, 王斌, 袁燕玲, 郭蕾, 张海峰, 薛新华, 吕宁. 进展期食管胃交界腺癌临床病理分析319例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 784-789
- 12 Bai JG, Lv Y, Dang CX. Adenocarcinoma of the Esophagogastric Junction in China according to Siewert's classification. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36: 364-367 [PMID: 16766566 DOI: 10.1093/jjco/hyl042]
- 13 向仲素. II、III型食管胃结合部腺癌手术治疗中切口选择的临床研究. 现代预防医学 2011; 38: 3864-3866
- 14 Hosokawa Y, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Kato Y, Daiko H, Nishimura M, Katsumata K, Sugiyama Y, Kinoshita T. Clinicopathological features and prognostic factors of adenocarcinoma of the esophagogastric junction according to Siewert classification: experiences at a single institution in Japan. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 677-683 [PMID: 21822549 DOI: 10.1245/s10434-011-1983-x]
- 15 杨弘, 傅剑华. 以手术为主的食管癌综合治疗的进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3471-3475

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血的临床疗效及再出血的因素

阮桂珍, 董正永, 高峰, 阮秀丽

阮桂珍, 董正永, 高峰, 阮秀丽, 湖北省黄冈市医院消化内科
湖北省黄冈市 438400

阮桂珍, 副主任医师, 主要从事胃肠病方面的研究。

作者贡献分布: 本文由阮桂珍撰写; 董正永、高峰及阮秀丽参与
手术治疗以及本文的修改。

通讯作者: 阮桂珍, 副主任医师, 438400, 湖北省黄冈市红安县
城关镇陵园大道附50号, 湖北省黄冈市红安县人民医院消化内
科. ruanguizhen_hb@163.com

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-07

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-08

Clinical effect of digestive endoscopy combined with quadruple therapy in treatment of gastric ulcer bleeding

Gui-Zhen Ruan, Zheng-Yong Dong, Feng Gao,
Xiu-Li Ruan

Gui-Zhen Ruan, Zheng-Yong Dong, Feng Gao, Xiu-Li
Ruan, Department of Gastroenterology, Hong'an People's
Hospital, Huanggang 438400, Hubei Province, China

Correspondence to: Gui-Zhen Ruan, Associated Chief
Physician, Department of Gastroenterology, Hong'an Peo-
ple's Hospital, Huanggang 438400, Hubei Province,
China. ruanguizhen_hb@163.com

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-07

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To assess the clinical efficacy of endoscopy
combined with quadruple therapy in the treat-
ment of gastric ulcer bleeding.

METHODS: One hundred and sixty-four pa-
tients with gastric ulcer bleeding treated at our
hospital from February 2010 to February 2012
were randomly divided into either a treatment
group or a control group, with 82 cases in each
group. The treatment group underwent endo-
scopic therapy combined with quadruple thera-
py, while the control group received quadruple
therapy only. The efficacy and factors associated
with re-bleeding were analyzed.

RESULTS: The response rate was 96.2% in the
treatment group. Of all 164 patients, 23.8% de-

veloped re-bleeding. The amount of bleeding
and the percentage of patients with grade 3 or
more ulcer were higher in the control group than
in the treatment group. Hemoglobin, platelet
count, and the percentage of patients undergo-
ing endoscopic treatment were less in the control
group than in the treatment group. Multivariate
analysis showed that ulcer grade, hemoglobin
and endoscopic treatment were independent
risk factors for re-bleeding.

CONCLUSION: Digestive endoscopy combined
with quadruple therapy is safe and effective in
the treatment of gastric ulcer bleeding. Endo-
scopic treatment, lower hemoglobin, and higher
ulcer grade are risk factors for re-bleeding.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All
rights reserved.

Key Words: Digestive endoscopy; Quadruple thera-
py; Gastric ulcer; Rehaemorrhagia; Clinical efficacy

Ruan GZ, Dong ZY, Gao F, Ruan XL. Clinical effect of
digestive endoscopy combined with quadruple therapy in
treatment of gastric ulcer bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua
Zazhi* 2013; 21(31): 3409-3412 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3409>

摘要

目的: 研究消化内镜合并四联疗法治疗胃溃
疡出血的临床疗效及再出血因素。

方法: 选取我院2010-02/2012-02胃溃疡出血患
者164例, 随机分为治疗组及对照组各82例, 治
疗组应用消化内镜治疗联合四联疗法, 对照组
单用四联疗法进行治疗, 对比疗效并分析其预
后的影响因素。

结果: 治疗组有效率为96.2%, 164例患者中,
39例(23.8%)患者发生再次出血(A组), 135例
(82.3%)患者未发生再次出血(B组)。其中治疗
组出血13例(15.8%), 对照组出血26例(31.7%)。

■背景资料

胃溃疡是一种常
见的消化系统疾
病, 发病因素复
杂, 常伴出血、穿
孔等并发症, 危及
生命。胃溃疡出血
是临床上内科常
见的急症之一, 内
科药物常作为人
们的习惯疗法。现
随着消化内镜的
广泛应用, 止血效
果已有很大提高,
但再次出血的治
疗效果不佳。

■同行评议者

陈国忠, 主任医
师, 广西医学院
第一附属医院消
化内科

■ 研发前沿

消化内镜为治疗胃溃疡出血重要方法之一, 消化内镜既可查明出血病因, 又可以进行镜下止血, 大大减少了外科手术止血手术的次数, 减少了患者的痛苦, 现已为临床广泛应用. 但消化内镜合并四联疗法的治疗胃溃疡出血的相关报道并不多.

A组出血量、溃疡Ⅲ级人数百分比均大于B组, 血红蛋白、血小板、是否内镜治疗人数百分比均小于B组. 多因素分析表明溃疡Ⅲ级人数百分比、血红蛋白及是否内镜治疗人数百分比均为独立危险因素.

结论: 消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血效果好, 未用内镜治疗, 血红蛋白低, 溃疡Ⅲ级为再出血的危险因素.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 消化内镜; 四联疗法; 胃溃疡; 临床疗效; 预后分析

核心提示: 本研究针对国内较少报道的内镜合并四联疗法及胃溃疡再出血的危险因素做了系统的研究, 得出内镜合并四联疗法治疗胃溃疡出血效果好, 用内镜治疗, 血红蛋白低, 溃疡Ⅲ级为再出血的危险因素.

阮桂珍, 董正永, 高峰, 阮秀丽. 消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血的临床疗效及再出血的因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3409-3412 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3409>

0 引言

胃溃疡是一种常见的消化系统疾病, 发病因素复杂, 常伴出血、穿孔等并发症, 危及生命^[1,2]. 胃溃疡出血是临床上内科常见的急症之一, 内科药物常作为人们的习惯疗法. 现随着消化内镜的广泛应用, 止血效果已有很大提高, 但再次出血的治疗效果不佳. 有研究表明^[3,4], 再次出血时止血效果欠佳, 病死率明显升高, 所以研究影响胃溃疡的再出血的因素就具有重要的意义. 本研究应用消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血疗效显著, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2010-02/2012-02胃溃疡出血患者164例, 随机分为治疗组及对照组各82例, 其中治疗组男性44例, 女性38例, 年龄34-70岁, 平均54.34岁±9.27岁, 胃溃疡病史1-16年, 平均5.22年±1.35年, 对照组男性42例, 女性40例, 年龄31-68岁, 平均55.16岁±6.38岁, 胃溃疡病史1-14年, 平均5.37年±1.48年, 两组患者在年龄、性别及病程上无显著差异($P>0.05$), 具有可比性. 两组患者的临床表现为反酸、嗝气、规律性上

表 1 两组止血效果有效率对比(%)

分组	有效	无效
治疗组	96.2	3.8
对照组	73.1	26.9

腹痛、呕血或黑便, 可伴头晕、气促、四肢冰凉、血压下降等. 排除严重疾病及因肿瘤或其他原因胃出血者.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者均经胃镜确诊为胃溃疡, 幽门螺杆菌检查阳性. 治疗组在内镜下应用冷生理盐水冲洗出血部位, 清除周围血痂暴露出血点, 应用套环套扎止血或在溃疡周围注射1:10000的肾上腺素止血, 每处1-2 mL, 总量10 mL左右. 3 min后见局部组织逐渐变白, 溃疡停止出血后停止手术. 术后禁食24 h, 并给予四联疗法: 兰索拉唑15 mg, 2次/d, 阿莫西林100 mg, 2次/d, 左氧氟沙星200 mg, 2次/d, 枸橼酸铋钾220 mg, 2次/d. 如无再次出血, 术后24 h可进流食, 术后48 h后进半流食, 1 wk后进普食.

1.2.2 评价标准: (1)出血停止的指征: 治疗后无呕血黑便; 胃管引流未见血性液; 血常规检验未提示进行性出血; 粪常规隐血阴性. 有效: 治疗后72 h出血停止. 无效: 治疗72 h后出血未停止; (2)再出血判断标准: 2 wk内再次出血^[5]. 如再出血需经胃镜下止血, 如再次止血后48 h出血>1000 mL或血常规提示进行性出血无明显改善者, 转入外科治疗.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计分析, 计量资料比较采用 t 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 多因素分析采用Logistic回归, 模型筛选采用逐步回归法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者止血效果对比 治疗后治疗组有效率为96.2%, 对照组有效率为73.1%, 两组有效率对比有显著性差异($P<0.05$)(表1).

2.2 再次出血发生率 164例患者中, 39例(23.8%)患者发生再次出血(A组), 135例(82.3%)患者未发生再次出血(B组). 其中治疗组出血13例(15.8%), 对照组出血26例(31.7%).

2.3 单因素分析 A组患者在年龄、性别比与B组无统计学差异($P>0.05$), A组出血量、溃疡Ⅲ级人数百分比均大于B组($P<0.05$), A组血红蛋白、

表 2 影响再出血因素的单因素比较分析

指标	A组	B组	χ^2 或 t 值	P 值
年龄(岁)	55.28 ± 8.69	55.85 ± 7.47	0.31	>0.05
性别比(男/女)	74/61	16/13	0.33	>0.05
出血量(mL)	230 ± 45	160 ± 61	11.22	<0.05
溃疡Ⅲ级(%)	27.59	3.66	13.94	<0.05
血红蛋白(g/L)	89.85 ± 7.84	105.62 ± 8.89	9.52	<0.05
血小板($10^9/L$)	119.51 ± 9.22	173.39 ± 16.73	12.85	<0.05
是否内镜治疗(%)	33.3	51.1	14.69	<0.05

■ 相关报道

Singh等的研究显示, 消化系统内镜联合四联疗法对于胃溃疡止血有较好的效果, 且复发率较低。李兆申教授在2012年中国消化系统疾病学术大会上指出我国患者多, 内镜例数大, 应多开展相关研究, 发表高影响力文章。

表 3 影响再出血因素的非条件Logistic回归分析

自变量	mean ± SD	P 值	OR值	95%CI
是否内镜治疗	1.83 ± 0.43	0.026	2.68	1.44–6.86
血红蛋白	1.31 ± 0.36	0.014	2.86	1.12–4.98
溃疡Ⅲ级	1.25 ± 0.52	0.022	1.95	1.06–3.11

血小板、是否内镜治疗人数百分比均小于B组($P<0.05$)(表2)。

2.4 多因素回归分析 采用非条件Logistic回归分析再次出血因素。多因素分析表明溃疡Ⅲ级人数百分比、血红蛋白及是否内镜治疗人数百分比均为独立危险因素(表3)。

3 讨论

随着近年来人们生活水平的提高, 胃溃疡的发生率也逐年提高, 其发病机制现仍不完全清楚, 考虑为: (1)胃酸及胃蛋白酶的增多导致胃黏膜损害; (2)黏液及黏膜的保护作用下降; (3)幽门螺杆菌的感染^[6-8]。因此, 抑制胃酸分泌、保护胃黏膜、清除幽门螺杆菌感染可促进胃溃疡的愈合, 预防复发。应用四联疗法可明显改善患者胃溃疡症状, 促进胃溃疡的愈合, 减少并发症。兰索拉唑为新型抗酸药物, 对胃酸的抑制功能强于奥美拉唑^[9]。左氧氟沙星和阿莫西林为四联疗法的主要抗生素, 枸橼酸铋钾为胃黏膜保护剂, 防止胃酸对溃疡的侵袭^[10]。

胃溃疡出血是内科常见的急症之一, 国外报道发病率大约占上消化道出血的35%^[5], 小量时症状不明显, 大量出血时伴黑便及呕血, 可伴头晕、气促、四肢冰凉、血压下降等^[11]。消化内镜为治疗胃溃疡出血重要方法之一, 消化内镜既可查明出血病因, 又可以进行镜下止血, 大大减少了外科止血手术的次数, 减少了患者的痛苦, 现已为临床广泛应用^[12]。但消化内镜合并

四联疗法的治疗胃溃疡出血的相关报道并不多, 本研究显示其止血有效率达96.2%, 再出血率为15.8%, 较国外文献报道的15%稍高^[13]。原因可能为消化内镜的使用的熟练程度有待提高, 且器材质量较国外稍差, 我国患者对病情不够重视, 就诊时病情较重有关, 具体原因仍需相关研究进一步证明。

再次出血病情较第一次重, A组患者在年龄、性别比与B组无统计学差异($P>0.05$), A组出血量、溃疡Ⅲ级人数百分比均大于B组($P<0.05$), A组血红蛋白、血小板、是否内镜治疗人数百分比均小于B组($P<0.05$)。多因素分析显示是否内镜治疗、血红蛋白、溃疡Ⅲ级的人数为其再出血的独立因素。上述结果表明, 出血量大, 溃疡为Ⅲ级, 血红蛋白、血小板低、非内镜治疗患者再次出血可能性大, 经校正发现多因素回归分析显示是否内镜治疗、血红蛋白量及溃疡Ⅲ级为独立危险因素, 这与国外文献报道一致^[14]。此外, 可能由于样本量不大, 在本研究中虽然年龄非其独立危险因素, 但据我国相关文献报道^[9,15,16], 老年溃疡患者死亡率高, 常与其病因复杂, 出血症状不典型, 病情较重有关, 需要密切观察, 及早行相关治疗。

总之, 消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血效果好, 未用内镜治疗, 血红蛋白低, 溃疡Ⅲ级为再出血的危险因素, 具有上述临床特征的患者需主管医师严密观察, 必要时行外科手术治疗。

4 参考文献

- 孙思予, 葛楠. 上消化道出血的内镜治疗. 中国实用外科杂志 2010; 10: 427-428
- 李浩然. 242例急性非静脉曲张性上消化道出血患者危险评分分析. 太原: 山西医科大学, 2012
- 张锦华, 庄剑波, 缪连生, 袁菊霞, 张富花, 丁向萍, 陈丽. 127例上消化道大出血急诊内镜分析. 当代医学 2010; 16: 103-104

■同行评价

本文研究消化内镜联合四联疗法治疗胃溃疡出血的临床疗效及再出血因素, 研究对象选择合理、设计合理、对临床医师有一定参考价值。

- 4 张锡迎, 陈毅斌, 张宝庭. 序贯疗法与10d四联疗法抗Hp疗效对比分析. 中国医药导刊 2012; (10): 438-439
- 5 Singh D, Laya AS, Vaidya OU, Ahmed SA, Bonham AJ, Clarkston WK. Risk of bleeding after percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG). *Dig Dis Sci* 2012; 57: 973-980 [PMID: 22138961 DOI: 10.1007/s10620-011-1965-7]
- 6 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 胃肠病学 2006; 11: 674-684
- 7 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]
- 8 张锦春. 铝碳酸镁和奥美拉唑联合治疗胃溃疡的比较. 中国现代药物应用 2011; 5: 178-179
- 9 陈有为, 王杰伟, 张希成, 曹勇, 陈韶华, 虞朝辉, 厉有名. 胃镜下胃溃疡和十二指肠溃疡的检出率比较. 第一届全国老年消化内镜和消化道疾病研讨会论文汇编, 2008
- 10 余文发. 联合用药治疗胃炎及胃十二指肠溃疡疗效观察. 中国学校卫生 2006; 27: 905-905
- 11 Wang J, Xu L, Shi R, Huang X, Li SW, Huang Z, Zhang G. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Digestion* 2011; 83: 253-260 [PMID: 21282951 DOI: 10.1159/000280318]
- 12 钟旭江, 朱创健. 雷贝拉唑与奥美拉唑治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡的疗效比较. 中国药房 2011; (32): 3008-3010
- 13 Yuan W, Li Yumin D, Yang L. Iron deficiency anemia in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis of randomized controlled trials. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 665-676 [PMID: 20201716]
- 14 Nam SY, Choi IJ, Ryu KH, Kim BC, Kim CG, Nam BH. Effect of *Helicobacter pylori* infection and its eradication on reflux esophagitis and reflux symptoms. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2153-2162 [PMID: 20571493 DOI: 10.1038/ajg.2010.251]
- 15 刘英. 老年胃溃疡临床表现与胃镜特点探讨. 中华医学会第七次全国消化病学术会议论文汇编(上册), 2007
- 16 叶晓芬, 蔡建庭. 消化性溃疡复发的原因及防治策略. 国际消化病杂志 2008; 28: 130-131

编辑 田滢 电编 鲁亚静



适形放疗和XELOX方案联合治疗胃癌术后腹腔淋巴结转移及其机制

李春来, 吴正阳, 杨卫军, 陈果

李春来, 吴正阳, 杨卫军, 陈果, 贵阳市第一人民医院普外科
贵州省贵阳市 550002

李春来, 副主任医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由李春来设计; 研究过程由李春来、吴正阳、杨卫军及陈果操作完成; 所用试剂由李春来提供; 数据测定和分析由吴正阳与杨卫军完成; 论文写作由李春来完成。

通讯作者: 李春来, 副主任医师, 550002, 贵州省贵阳市南明区博爱路97号, 贵阳市第一人民医院普外科。

q25789611@163.com

电话: 0851-5833094

收稿日期: 2013-08-01 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-11-08

Conformal radiation therapy combined with XELOX chemotherapy for management of abdominal lymph node metastasis in patients with gastric cancer after surgery

Chun-Lai Li, Zheng-Yang Wu, Wei-Jun Yang, Guo Chen

Chun-Lai Li, Zheng-Yang Wu, Wei-Jun Yang, Guo Chen, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550002, Guizhou Province, China

Correspondence to: Chun-Lai Li, Deputy Chief Physician, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Guiyang, 97 Boai Road, Nanming District, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. q25789611@163.com
Received: 2013-08-01 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of conformal radiation therapy combined with XELOX (capecitabine plus oxaliplatin) chemotherapy in the treatment of abdominal lymph node metastasis in patients with gastric cancer after surgery.

METHODS: Forty patients who developed abdominal lymph node metastasis after surgery for gastric cancer were randomly divided into either a control group ($n = 19$) or a treatment group ($n = 21$). The treatment group was given conformal radiation therapy combined with chemotherapy with XELOX (xeloda + oxaliplatin), and the control group received XELOX chemotherapy only.

Clinical efficacy, postoperative survival rate and adverse reactions were compared between the two groups. The levels of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-6 (IL-6) in peripheral blood of all subjects were measured by ELISA preoperatively and postoperatively.

RESULTS: Total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (82.0% vs 52.7%, $\chi^2 = 3.65$, $P < 0.05$). The 1- and 2-year postoperative survival rates were also significantly higher in the treatment group than in the control group (61.9% vs 42.1%, 52.3% vs 21.1%, both $P < 0.05$). The incidence of adverse reactions (bone marrow suppression, gastrointestinal reactions, anemia, and liver function damage) showed no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). Six months after the treatment, peripheral blood levels of IL-6 were decreased and those of IL-2 were increased in two groups, and the difference was significant (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Conformal radiation therapy combined with XELOX chemotherapy can significantly improve curative effect and postoperative survival in gastric cancer patients with postoperative abdominal lymph node metastasis, and is associated with tolerable side effects.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Conformal radiation therapy; XELOX; Lymphatic metastasis; IL-2

Li CL, Wu ZY, Yang WJ, Chen G. Conformal radiation therapy combined with XELOX chemotherapy for management of abdominal lymph node metastasis in patients with gastric cancer after surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3413-3417 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3413.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3413>

摘要

目的: 探讨适形放疗和XELOX方案(奥沙利铂

■背景资料

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤,多数患者就诊时肿瘤已转移,发展成为进展期胃癌。目前普遍主张采用外科手术及化疗和放疗为主的综合方案进行治疗,但常规放疗化疗的不良反应较大,患者难以耐受。适形放疗通过将计算机技术及影像学技术结合,通过三维空间的虚拟图像确定靶区和照射剂量,对肿瘤靶区用高剂量的精确照射,同时减少了对正常细胞的照射量,从而可以把放疗的不良反应降到最低。

■同行评议者

郑鹏远,教授,主任医师,博士生导师,副院长,郑州大学第二附属医院消化科

■ 研发前沿

肿瘤放疗的理想境界是只照射肿瘤而不照射肿瘤周围的正常组织。随着计算机技术和肿瘤影像技术的发展,通过虚拟三维重建患者实体肿瘤组织,计算出真实的放疗剂量分布并进行优化,从而最大程度地杀伤肿瘤,并对肿瘤周围的正常组织减少伤害。

十卡培他滨)联合治疗腹腔淋巴结转移胃癌患者的临床疗效和机制。

方法: 将40例胃癌根治术后出现腹腔淋巴结转移患者随机分为对照组19例和治疗组21例,治疗组给予适形放疗联合XELOX方案(奥沙利铂+卡培他滨),对照组仅给予XELOX方案进行化疗。统计并比较两组患者的临床疗效、术后生存率和不良反应发生情况,采用ELISA法对患者术前、术后外周血白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)和IL-6的水平进行测定。

结果: 治疗组总有效率为82%;明显优于对照组的52.7%,差异有统计学意义($\chi^2 = 3.65$, $P < 0.05$);治疗组与对照组2、3年的术后生存率分别为61.9% vs 42.1%、52.3% vs 21.1%,差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗组骨髓抑制、胃肠道反应、贫血和肝功能损伤等不良反应的发生率高于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$);两组患者术后IL-6水平下降,IL-2升高,其中术后6 mo时两组患者的IL-2和IL-6水平与术前比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 胃癌根治术后腹腔淋巴结转移患者采用适形放疗联合XELOX方案治疗可明显提高疗效和患者的术后生存率,延长生存期,不良反应可耐受,但不良反应发生情况高于单独化疗的患者,但因本研究病例数较少,有待于进一步研究。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 适形放疗; XELOX; 淋巴结转移; 白细胞介素-2

核心提示: 本文结果表明,应用适形放疗联合XELOX方案对患者进行治疗后,疗效和远期生存率明显高于单纯化疗组,但同步放化疗的不良反应情况与单纯化疗相比有所增多。

李春来, 吴正阳, 杨卫军, 陈果. 适形放疗和XELOX方案联合治疗胃癌术后腹腔淋巴结转移及其机制研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3413-3417 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3413.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3413>

0 引言

随着人们生活环境和饮食习惯的改变,导致胃癌在我国的发病率较高,且多数患者确诊时已发展成为进展期胃癌^[1]。外科手术和化疗及放疗为主的综合治疗是进展期胃癌的首选治疗方式,

但常规放化疗的不良反应较大,导致其预后较差^[2]。近年来,随着放疗设备和放疗技术的发展,三维适形放疗(3-dimensional conformal radiation therapy, 3D-CRT)已逐渐成为肿瘤治疗的主流技术之一,他可以高精度地照射肿瘤靶区,在杀伤肿瘤细胞的同时,最大限度地保护了正常细胞。本研究比较了适形放疗联合XELOX方案与单纯化疗治疗胃癌的临床效果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取于2007-01/2009-06来我院住院治疗并实施腹腔镜胃癌根治术患者40例,均经胸部X线、CT、胃镜检查及病理组织活检确诊的胃癌患者,预计生存时间 ≥ 6 mo,所有患者均于行全胃或胃大部R0切除术和D2淋巴结清扫术后,根据术后治疗方式不同随机分为对照组19例和治疗组21例,排除严重心脑血管、肝、肾疾病患者、化疗、放疗禁忌症患者和发生远端转移或合并有其他恶性肿瘤的患者。治疗前两组患者间性别、年龄、临床分期及肿瘤分化程度等临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1),有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 治疗组于术后1 mo采用三维适形放疗治疗技术进行治疗:患者采取仰卧位,真空负压带固定后在CT扫描下模拟定位,在CT上根据肿瘤的原发部位依次勾画肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)、临床靶区(clinical target volume, CTV)和计划靶区(planning target volume, PTV),同时勾画需要保护的正常组织或器官的位置,确定所需的三维剂量分布,由计算机进行逆行计算后制定治疗计划,采用医用直线加速器6MV-X线进行照射,5次/wk, 2 Gy/次,总剂量为56-60 Gy, 5-6 wk完成。同时给予XELOX方案进行化疗:于治疗开始1 d给予奥沙利铂85 mg/m²加入到50 g/L的葡萄糖注射液250 mL中,静脉滴注2 h,每3 wk使用1次;口服卡培他滨1000 mg/m², 2次/d,连续服用2 wk后休息1 wk。21 d为1个周期,共进行4-6个周期的化疗,每化疗2个周期后根据可测病灶大小的变化评价疗效。对照组于术后1 mo行常规放疗,同时采用 XELOX方案进行化疗,方法同治疗组。

1.2.2 观察指标: 放化疗结束后统计比较两组疗效、1-3年术后生存率和不良反应发生情况,采用ELISA法对患者术前、术后3 mo和6 mo外周

表 1 两组患者临床资料比较 (n)

临床资料	对照组	治疗组
n	19	21
性别		
男	11	12
女	8	9
年龄(岁)	57.5 ± 9.5	56.9 ± 9.2
TNM分期		
I	3	3
II	4	5
IIIA	7	8
IIIB	6	5
肿瘤分化程度		
高分化	4	3
中分化	8	10
低分化	7	8

血中白介素2(interleukin-2, IL-2)和IL-6的水平进行测定。疗效参照WHO实体瘤统一评价标准进行评估^[3], 包括完全缓解(complete response, CR): 患者的各项检查项目均示病灶消失; 部分缓解(partial response, PR): 症状体征多数缓解, 病灶缩小幅度在50%以上; 稳定(stable disease, SD): 症状体征有部分改善, 病灶缩小幅度在25%-50%; 进展(progressive disease, PD): 症状体征未改善或者恶化, 病灶缩小幅度<25%或出现新病灶。总有效率 = PR+CR。

统计学处理 数据采用SPSS17.0软件进行分析。计量资料数据以mean±SD表示, 组间比较采用t检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者疗效比较 如表2所示, 两组疗效比较差异有统计学意义($Z=2.07$, $P=0.04$)。对照组总有效率为52.7%, 治疗组总有效率达到82%; 治疗组总有效率明显优于对照组, 差异显著($\chi^2=3.65$, $P=0.04$)。

2.2 两组患者术后生存率对比 随访时间最长为3年, 截止至2013-06-30。如表3所示, 对照组和治疗组的1年术后生存率分别为63.1%和71.4%, 比较差异无统计学意义($P>0.05$), 治疗组的2、3年术后生存率明显高于对照组, 且差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 两组患者的不良反应情况比较 如表4所示, 治疗组和对照组的主要不良反应情况包括白细胞下降、血小板减少、胃肠道反应(恶心呕吐、

腹泻)以及贫血和肝功能损伤, 治疗组的不良反应总发生率均高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 两组患者IL-2和IL-6水平变化 如表5所示, 两组患者术前IL-2和IL-6水平差异不显著($P>0.05$), 术后3 mo时IL-6下降, IL-2水平升高, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 术后6 mo时两组患者的IL-6明显下降, 与术前相比差异有统计学意义($P<0.05$); 两组患者的IL-2水平均升高, 且对照组与术前相比较差异较显著($P<0.05$)。

3 讨论

胃癌的首选治疗方法是手术治疗, 但术后局部复发或肿瘤转移的发生率高达50%-65%, 成为影响患者生存的首要因素^[4]。这是因为多数患者就诊时病情已属进展期, 单纯通过手术很难将淋巴结清扫干净, 虽然胃癌对化疗较为敏感, 但对胃癌患者只进行放疗或化疗的效果并不理想^[5,6]。因此, 目前国际上普遍主张采用化疗和放疗辅以外科手术的综合治疗模式, 但常规放化疗的不良反应较大, 随着计算机模拟技术和影像学技术的发展, 适形放疗已逐渐成为胃癌治疗的主要手段之一^[7,8]。

近年来, 肿瘤放射治疗已由二维放射治疗发展为适形放射治疗, 后者可更最大限度地增加靶剂量并保护靶周正常组织和重要器官, 已广泛应用于多种实体瘤的放射治疗^[9,10]。Xu等^[11]应用适形放疗+XELOX方案对晚期胃癌45例进行治疗, 总有效率达到46.7%, 表明联合治疗方案对于晚期胃癌有效率较高且不良反应较小。最新的美国国立癌症指南(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)对于晚期胃癌根治术后患者的推荐治疗方式为放疗+5-Fu或卡培他滨的同步放化疗。但5-Fu的半衰期较短, 对于复发患者的疗效较差, 直接影响治疗效果。有研究表明卡培他滨的靶向作用更好, 不良反应小, 联合放疗能够起到协同增敏的作用。Lee等^[12]的研究也认为卡培他滨用于胃癌根治术后的同步放化疗效果满意, 患者的耐受性较好。本文研究结果显示, 治疗组采用适形放疗+XELOX方案的总有效率为82%, 明显高于对照组的52.7%, 差异有统计学意义($\chi^2=3.65$, $P=0.04$); 两组患者的主要不良反应包括骨髓抑制(白细胞下降、血小板减少)、胃肠道反应(恶心呕吐、腹泻)及贫血和肝损伤, 治疗组的不良反应发生率均高于对照组, 但差异不显著($P>0.05$); 治疗组的2、3年术后生

■ 相关报道

陈刚等的研究比较了采用三维适形放疗(3D-CRT)和常规放疗对进展期胃癌的疗效和安全性, 发现3D-CRT可明显降低放疗毒性, 且对进展期胃癌的疗效更好。

■创新盘点

适形放疗联合XELOX方案治疗淋巴结转移在国外已普遍开展,但在国内临床上少见其相关的治疗效果和安全性报道,本文可提供参考。

表 2 两组患者疗效比较 $n(\%)$

分组	n	完全缓解	部分缓解	稳定	进展	总有效率(%)
对照组	19	2(10.5)	8(42.2)	4(21.5)	5(26.3)	52.7
治疗组	21	7(33.3)	10(47.7)	2(9.5)	2(9.5)	82.0

表 3 两组患者术后生存率比较

分组	n	术后生存率 $n(\%)$		
		1年	2年	3年
对照组	19	12(63.1)	8(42.1)	4(21.1)
治疗组	21	15(71.4)	13(61.9)	11(52.3)
χ^2	—	0.31	1.56	4.17
P 值	—	0.57	0.04	0.04

表 4 两组患者的不良反应发生情况比较

分组	对照组					治疗组					χ^2	P 值
	I	II	III	IV	总发生率 $n(\%)$	I	II	III	IV	总发生率 $n(\%)$		
白细胞下降	5	2	0	0	7(36.8)	7	2	1	0	10(47.6)	0.47	0.49
血小板减少	3	0	0	0	3(15.8)	3	1	0	0	4(19.1)	0.07	0.78
恶心呕吐	4	3	1	0	8(42.1)	6	2	2	0	10(47.6)	0.12	0.73
腹泻	5	3	0	0	8(42.1)	7	4	0	0	11(52.4)	0.42	0.51
贫血	3	3	0	0	6(31.6)	5	3	1	0	9(42.9)	0.54	0.46
肝功能损伤	3	1	0	0	4(21.1)	4	2	0	0	6(28.6)	0.30	0.58

表 5 两组患者术前及术后IL-6和IL-2水平变化的比较 (n , mean \pm SD)

分组	n	IL-6(ng/mL)			IL-2(μ g/mL)		
		术前	术后3 mo	术后6 mo	术前	术后3 mo	术后6 mo
对照组	19	15.2 \pm 3.9	12.8 \pm 3.4	8.8 \pm 2.5 ^a	31.3 \pm 10.2	35.1 \pm 11.6	43.7 \pm 12.1 ^a
治疗组	21	15.1 \pm 3.7	13.1 \pm 3.3	11.1 \pm 3.6 ^a	31.6 \pm 10.1	32.8 \pm 10.5	34.8 \pm 10.7
t 值	—	0.18	2.45	12.90	0.99	3.57	9.65
P 值	—	0.43	0.57	0.01	0.16	0.31	0.01

^a $P < 0.05$ vs 术前组. IL: 白介素.

存率明显高于对照组(61.9% vs 42.1%, 52.3% vs 21.1%),且差异有统计学意义($P < 0.05$),与上述文献中的报道相符。

IL-2是由T淋巴细胞产生的免疫调节因子,其作用机制包括与细胞膜受体结合后诱导外周血单核细胞,激活淋巴因子,产生杀伤细胞(LAK),从而杀灭肿瘤细胞,是反映癌症患者细胞免疫功能变化的关键指标之一,其水平的波动对了解恶性肿瘤患者病情的发展变化有一定的意义^[13]. IL-6是参与免疫应答、介导炎症损伤

的重要细胞因子之一,是检测创伤反应程度的主要指标,在放化疗或手术后的表达量明显降低,是较敏感的组织损伤标志物^[14]. Evans等^[15]比较了腹腔镜下胃癌根治术和开腹胃癌根治术患者的治疗效果,发现术后患者的血浆IL-6含量明显减少,且对照组IL-6水平明显低于治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$).本研究结果显示,术后3 mo和6 mo时两组患者的IL-6水平降低,IL-2含量升高,且在术后6 mo时与术前比较差异有统计学意义($P < 0.05$),且对照组的免疫调节能力明

显好于治疗组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 表明对照组对机体免疫功能的影响较小, 与文献报道相符。

总之, 应用适形放疗联合XELOX方案进行治疗后, 患者的近期疗效和远期生存率明显高于对照组, 但同步放化疗的不良反应发生率与单纯化疗相比有所增加, 此外本研究中病例数较少, 有待进行进一步的研究。

4 参考文献

- 1 张江洲. 胃癌术后调强放疗的应用进展. 实用癌症杂志 2010; 25: 433
- 2 王欣, 于丽娟, 王大龙, 贾承晔, 田墨涵. 18F-FDG PET/CT对进展期胃癌治疗前评估的可行性. 世界华人消化杂志 2009; 6: 2159-2163
- 3 Kunisaki C, Makino H, Takagawa R, Oshima T, Nagano Y, Ono HA, Akiyama H, Shimada H. Efficacy of laparoscopy-assisted distal gastrectomy for gastric cancer in the elderly. *Surg Endosc* 2009; 23: 377-383 [PMID: 18443861]
- 4 任涛, 谭榜宪, 柳弥, 陈晓品. 三维适形放疗联合XELOX方案同期化疗复发直肠癌疗效分析. 重庆医学 2010; 39: 2338
- 5 杨治花, 折虹, 闫钢, 詹文华, 张自新, 丁喆. 局部进展期胃癌根治术后同期放化疗与单纯化疗的临床比较. 中华放射肿瘤学杂志 2012; 21: 252
- 6 Sasako M. Surgery and adjuvant chemotherapy. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 193-195 [PMID: 18553226 DOI: 10.1007/s10147-008-0791-1]
- 7 Topol M, Masłóń A. The problem of direct lymph drainage of the bronchopulmonary segments into the mediastinal and hilar lymph nodes. *Clin Anat* 2009; 22: 509-516 [PMID: 19306320 DOI: 10.1002/ca.20790]
- 8 Wu Y, Wei ZW, He YL, Schwarz RE, Smith DD, Xia GK, Zhang CH. Efficacy of adjuvant XELOX and FOLFOX6 chemotherapy after D2 dissection for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3309-3315 [PMID: 23745033 DOI: 10.3748/wjg.v19.i21.3309]
- 9 Hisatsune Y, Nakano H, Mihara Y, Tobe N, Ishibashi K, Shimamura T, Tanaka K, Aida Y, Otsubo T. A patient who showed a pathologically complete response after undergoing treatment with XELOX plus bevacizumab for synchronous liver metastasis of grade H2 from sigmoid colon cancer. *J Gastrointest Oncol* 2013; 4: E5-E10 [PMID: 23730524 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.060]
- 10 Lv J, Liu N, Liu KW, Ding AP, Wang H, Qiu WS. A randomised controlled phase II trial of the combination of XELOX with thalidomide for the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Cancer Biol Med* 2012; 9: 111-114 [PMID: 23691464 DOI: 10.3969/j.issn.2095-3941.2012.02.005]
- 11 Xu R, Han B, Shi Y, Xiong J, Li Y, Wang F, Qiu M, Jiang W, Lin T, Zhang L, He Y. Phase II clinical trial of XELOX as first line treatment for patients with unresectable or metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 150-162
- 12 Lee HS, Choi Y, Hur WJ, Kim HJ, Kwon HC, Kim SH, Kim JS, Lee JH, Jung GJ, Kim MC. Pilot study of postoperative adjuvant chemoradiation for advanced gastric cancer: adjuvant 5-FU/cisplatin and chemoradiation with capecitabine. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 603-607 [PMID: 16489675]
- 13 Kim W, Song KY, Lee HJ, Han SU, Hyung WJ, Cho GS. The impact of comorbidity on surgical outcomes in laparoscopy-assisted distal gastrectomy: a retrospective analysis of multicenter results. *Ann Surg* 2008; 248: 793-799 [PMID: 18948806 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181887516]
- 14 Hwang SH, Park do J, Jee YS, Kim HH, Lee HJ, Yang HK, Lee KU. Risk factors for operative complications in elderly patients during laparoscopy-assisted gastrectomy. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 186-192 [PMID: 19228529 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.10.023]
- 15 Evans C, Galustian C, Kumar D, Hagger R, Melville DM, Bodman-Smith M, Jourdan I, Gudgeon AM, Dalglish AG. Impact of surgery on immunologic function: comparison between minimally invasive techniques and conventional laparotomy for surgical resection of colorectal tumors. *Am J Surg* 2009; 197: 238-245 [PMID: 18639228]

■同行评价

本文对胃癌根治术后腹腔淋巴结转移患者采用适形放疗联合XELOX方案治疗的疗效术后生存率和不良反应情况进行了分析, 对胃癌术后腹腔淋巴结转移患者的治疗有一定的指导意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝硬化失代偿期患者低钠血症与肝性脑病及肾功能的相关性

蒋汉梅, 王学红, 杨勇, 芦永福

■背景资料

调查显示,在我国失代偿期肝硬化患者低钠血症的发生率约为63%,远高于国外报道的25%-30%,因此本病受到了广大学者的关注。传统观点认为肝硬化失代偿期低钠血症是由于患者体内的水潴留大于钠潴留,进而形成了稀释性低钠血症,因此临床上主要对饮食特别是钠盐的摄入进行了严格控制,并采用利尿剂排钠或腹水引流等措施,治疗结果往往会加重低钠血症,甚至对腹水的治疗效果也大大降低。

蒋汉梅, 王学红, 杨勇, 芦永福, 青海大学附属医院消化科 青海省西宁市 810001

蒋汉梅, 主治医师, 主要从事肝硬化和炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本文由蒋汉梅撰写; 王学红、杨勇及芦永福共同参与完成。

通讯作者: 蒋汉梅, 主治医师, 810001, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院消化科。

janganmei1976@126.com

电话: 0971-6162746

收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-09-07

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-08

Relationship between hyponatremia and hepatic encephalopathy and renal function in patients with decompensated cirrhosis

Han-Mei Jiang, Xue-Hong Wang, Yong Yang, Yong-Fu Lu

Han-Mei Jiang, Xue-Hong Wang, Yong Yang, Yong-Fu Lu, Department of Gastroenterology, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Han-Mei Jiang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Qinghai University Affiliated Hospital, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810001, Qinghai Province, China. janganmei1976@126.com

Received: 2013-08-07 Revised: 2013-09-07

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To explore the relationship between hyponatremia and hepatic encephalopathy and liver and kidney syndrome in patients with decompensated cirrhosis.

METHODS: One hundred and twenty patients with decompensated cirrhosis treated at our hospital were divided into three groups based on the level of serum sodium: mild, moderate and severe hyponatremia groups. Child-Pugh class and MELD score were calculated in all patients. The association of hyponatremia with hepatorenal syndrome and hepatic encephalopathy was analyzed.

RESULTS: Compared to the mild hyponatremia group, Child-Pugh class and MELD score increased significantly in the moderate and severe groups ($U = 4.303, 6.317$, both $P < 0.05$); and the increase was more significant in the severe group ($U = 2.816$, both $P < 0.05$). The incidences of hepatic encephalopathy and hepatorenal syndrome were significantly lower in the mild group than in the moderate group and the severe group ($\chi^2 = 17.912, 76.305, 6.058, 37.502$, all $P < 0.05$), as well as in the moderate group than in the severe group ($\chi^2 = 26.531, 21.694$, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The levels of serum sodium are closely related to the occurrence of hepatic encephalopathy and renal function in patients with decompensated cirrhosis. Blood sodium level can be used as a parameter for evaluation of the patient's condition and complications.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Hyponatremia; Hepatic encephalopathy; Hepatorenal syndrome

Jiang HM, Wang XH, Yang Y, Lu YF. Relationship between hyponatremia and hepatic encephalopathy and renal function in patients with decompensated cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3418-3421 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3418.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3418>

摘要

目的: 探讨失代偿期肝硬化患者血钠水平与病情和肝性脑病、肝肾综合征的关系。

方法: 将我院收治120例失代偿期肝硬化按照血钠水平分为轻度、中度和重度低钠血症组; 对3组患者进行Child-Pugh、MELD评分, 并统计分析低钠血症与肝肾综合征、肝性脑病的相关性。

结果: 与轻度低钠血症组相比, 中、重度组

■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

的Child-Pugh分级程度明显增加($U = 4.303$, 6.317 , $P < 0.05$); 其中重度组Child-Pugh分级程度显著高于中度组($U = 2.816$, $P < 0.05$). 轻度组肝性脑病和肝肾综合征的发病率显著低于中度组和重度组($\chi^2 = 17.912$, 76.305 , 6.058 , 37.502 , $P < 0.05$); 而重度组肝性脑病和肝肾综合征发病率显著高于中度组($\chi^2 = 26.531$, 21.694 , $P < 0.05$). 失代偿期肝硬化患者血钠水平与肝性脑病和肝肾综合征发生率密切相关。

结论: 低钠血症与失代偿期肝硬化患者并发症和预后有关, 血钠水平可以作为患者病情和并发症的判断指标之一。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 低钠血症; 肝性脑病; 肝肾综合征

核心提示: 本研究发现与轻度低钠血症组相比, 中、重度组的Child-Pugh分级程度明显增加($P < 0.05$); 而重度组Child-Pugh分级程度显著高于中度组($P < 0.05$), 这说明肝硬化患者病情严重程度与血钠水平有关, 血钠水平越低, 肝功能损害程度也严重, 患者预后也较差。肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)主要考量患者凝血酶原时间、肌酐、胆红素和肝性脑病等指标, 通过公式以数值的形式表示, 并将肾功能作为肝硬化患者预后的影响因素进行分析。在本研究中, 中、重度组的MELD分值明显高于轻度组, 其中重度组高于中度组, 这进一步证实了血钠水平越低, 患者的肝功能和肾功能越差。

蒋汉梅, 王学红, 杨勇, 芦永福. 肝硬化失代偿期患者低钠血症与肝性脑病及肾功能的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3418-3421 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3418.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3418>

0 引言

低钠血症是肝硬化患者常见的电解质紊乱并发症之一, 由于肝硬化患者存在肝功能衰退, 因此容易引起心房钠尿肽、抗利尿激素、醛固酮等激素失调, 导致钠、水潴留, 常合并低钠血症。调查显示^[1], 在我国失代偿期肝硬化患者低钠血症的发生率约为63%, 远高于国外报道的25%-30%, 因此本病受到了广大学者的关注。传统观点认为肝硬化失代偿期低钠血症是由于患者体内的水潴留大于钠潴留, 进而形成了稀释性低钠血症^[2], 因此临床上主要对饮食特别是钠盐的摄入进行了严格控制, 并采用利尿剂排钠或腹水引流等措施, 治疗结果往往会加重低钠

血症, 甚至对腹水的治疗效果也大大降低。近年来临床研究发现肝硬化患者血钠的降低水平与肝性脑病、肝肾综合征等发生率密切相关, 且血钠水平可以反映出患者的病情和预后, 因此很多学者开始着重研究肝硬化患者血清钠的水平。本文对我院收治的120例失代偿期肝硬化患者临床资料进行分析, 亚牛血钠水平对肝硬化的影响及预后, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-02/2013-03我院收治的120例失代偿期肝硬化患者作为研究对象, 男76例, 女44例, 年龄22-78岁, 平均年龄47.3岁±8.2岁。所有患者均符合《病毒性肝炎防治方案》中肝硬化失代偿期的诊断标准^[3], 并经实验室、临床检查确诊。其中乙型肝炎后肝硬化68例, 丙型肝炎后肝硬化7例, 酒精性肝病28例, 自身免疫性肝硬化8例, 原因不明9例。诊断标准: (1)肝性脑病诊断标准参考美国胃肠病学会《肝性脑病指导实践》对本病的诊断^[4]: 存在广泛门体侧枝循环或严重基础性肝病; 伴有肝性脑病的诱因; 有嗜睡、昏迷或精神紊乱的表现; 有明显的肝功能损害或血清氨升高, 脑电图有明显改变; (2)肝肾综合征诊断标准^[5]: 肝硬化并伴有肝腹水; 血清肌酐 $\geq 133 \mu\text{mol/L}$; 在进行血容量扩张治疗并停止使用利尿剂2 d后、血清肌酐无明显改善; 未发生休克症状。

1.2 方法

1.2.1 观察指标: 120例患者在住院当日及第2天进行血常规、凝血酶原时间、血生化、超声及心电图检查, 根据患者的临床资料分别计算功能Child-Pugh分值和肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)分值。其中Child-Pugh评分参考相关文献^[6]; MELD分值 = $3.8 \times \log_e(\text{胆红素} \mu\text{mol/L} \times 0.058) + 11.2 \times \log_e(\text{INR}) + 9.6 \times \log_e(\text{肌酐} \mu\text{mol/L} \times 0.011) + 6.4 \times (\text{病因学: 胆汁淤积型或酒精性肝硬化为0, 其他原因为1})$; 记录患者肝性脑病、肝肾综合征的发病率。

1.2.2 分组: 按照住院当天或第2天血清钠检测值作为分组依据^[7]: Na^+ : 130-135 mmol/L为轻度低钠血症组; Na^+ : 120-129 mmol/L为中度低钠血症组, $\text{Na}^+ < 120 \text{ mmol/L}$ 为重度低钠血症组, 其中轻度组31例, 中度组51例, 重度组38例, 三组患者在性别、年龄、病情等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行

■ 研发前沿

近年来临床研究发现肝硬化患者血钠的降低水平与肝性脑病、肝肾综合征等发生率密切相关, 且血钠水平可以反映出患者的病情和预后, 因此很多学者开始着重研究肝硬化患者血清钠的水平。

■应用要点

失代偿期肝硬化患者低钠血症与肝肾综合征和肝性脑病的发生密切相关,当血钠水平较低时,肝肾综合征和肝性脑病发病率会随之增加,导致患者预后较差。因此在临床治疗中需要密切监测患者血钠水平,以便及时评价患者病情和采取相应的治疗措施。

表 1 血清钠水平与肝功能Child-Pugh分级的关系 $n(\%)$

分组	n	Child-Pugh分级		
		Child A	Child B	Child C
轻度低钠血症组	31	17(54.84)	10(32.26)	4(12.90)
中度低钠血症组	51	11(21.57)	30(58.82)	10(19.61)
重度低钠血症组	38	1(2.63)	12(31.58)	25(65.79)

表 2 血清钠水平与MELD分值的关系 $n(\%)$

分组	n	MELD分值			
		≤9分	10-19分	20-29分	≥30分
轻度低钠血症组	31	14(45.16)	13(41.94)	4(12.90)	0
中度低钠血症组	51	9(17.65)	19(37.26)	15(29.41)	8(15.69)
重度低钠血症组	38	0	9(23.69)	12(31.58)	17(44.73)

表 3 血钠水平与肝性脑病、肝肾综合征的相关性 $n(\%)$

分组	n	肝性脑病	肝肾综合征
轻度低钠血症组	31	2(6.45)	0
中度低钠血症组	51	15(29.41) ^a	3(5.88) ^a
重度低钠血症组	38	25(65.79) ^{ac}	12(31.58) ^{ac}

^a $P<0.05$ vs 轻度组; ^c $P<0.05$ vs 中度组。

检验,计数资料以率的形式表示,率的比较采用 χ^2 检验,Child-Pugh评分和MELD评分采用Ridit法; $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清钠水平与肝功能Child-Pugh分级的关系 与轻度低钠血症组相比,中、重度组的Child-Pugh分级程度明显增加($U=4.303, 6.317$, $P<0.05$);其中重度组Child-Pugh分级程度显著高于中度组($U=2.816, P<0.05$)(表1)。

2.2 血清钠水平与MELD分值的关系 与轻度低钠血症组相比,中、重度组的MELD分值明显增加($U=5.0871, 5.957, P<0.05$);其中重度组MELD分值显著高于中度组($U=2.227, P<0.05$)(表2)。

2.3 血钠水平与肝性脑病、肝肾综合征的相关性 由表3可知,轻度组肝性脑病和肝肾综合征的发病率显著低于中度组和重度组($P<0.05$);其中重度组肝性脑病和肝肾综合征发病率显著高于中度组($P<0.05$)。

3 讨论

低钠血症是肝硬化常见的并发症,临床调查显

示^[8],该并发症与性别有关,其中男性发病率明显高于女性,这可能与男性肝硬化发病率较高有一定关系。发生低钠血症的肝硬化患者临床表现多样化,如呕吐、恶心、昏迷、嗜睡等。由于其临床表现无明显的特异性,因此很难通过临床表现判断病情;而对患者血钠水平的检测有助于评价患者的病情程度和预后。血钠水平与失代偿期肝硬化的机制较为复杂,目前研究认为可能与以下方面有关^[9,10]: (1)钠的摄入明显减少:由于临床严格控制钠盐的摄入以及长期使用葡萄糖注射液,均可以导致机体钠摄入降低; (2)排钠增加:长期使用利尿剂以及腹水的排除均可能引起钠的流失; (3)钠泵衰竭,失代偿期肝硬化往往已是中晚期肝硬化,肝功能的损害会使得体内高能磷酸键和钠泵的活性降低,导致细胞内 Na^+ 蓄积,而肾小管和集合管对 Na^+ 的重吸收减少,因此会引起机体发生低钠血症; (4)血容量相对不足:早期肝硬化会出现血容量不足,引起水潴留,当水潴留超过钠潴留就会形成稀释性低钠血症; (5)低蛋白血症:肝硬化患者常伴有低蛋白血症,患者血浆渗透压降低,导致钠丢失,进而产生低钠血症。

Child-Pugh和MELD评分是国际上通用的评价终末期肝硬化患者肝功能的指标^[11],其中Child-Pugh主要以凝血酶原时间、白蛋白、胆红素、腹水和肝性脑病为评分指标,将肝功能损害分为A、B、C三级。本研究发现与轻度低钠血症组相比,中、重度组的Child-Pugh分级程度明显增加($P<0.05$);而重度组Child-Pugh分级程度显著高于中度组($P<0.05$),这说明肝硬

化患者病情严重程度与血钠水平有关, 血钠水平越低, 肝功能损害程度也严重, 患者预后也较差. MELD主要考量患者凝血酶原时间、肌酐、胆红素和肝性脑病等指标, 通过公式以数值的形式表示, 并将肾功能作为肝硬化患者预后的影响因素进行分析. 在本研究中, 中、重度组的MELD分值明显高于轻度组, 其中重度组高于中度组, 这进一步证实了血钠水平越低, 患者的肝功能和肾功能越差.

研究中还发现轻度组肝性脑病和肝肾综合征的发病率显著低于中度组和重度组($P<0.05$); 其中重度组肝性脑病和肝肾综合征发病率显著高于中度组($P<0.05$). 低钠血症导致肝性脑病发病率增加的原因^[12,13]可能是机体中神经毒素或氨代谢引起细胞内谷氨酰胺合成增加, 诱导脑星形胶质细胞发生水肿. 此外因低钠血症导致的渗透压变化也会对星形胶质细胞产生双重刺激, 使得脑细胞易于受损, 对血液中氨和钠变化的耐受性降低, 进而加重脑病^[14]. 肝硬化患者体内动脉会发生扩张, 导致血容量相对不足, 血容量降低又会进一步刺激交感神经和肾素-血管紧张素活化, 引起血管强烈收缩. 由于失代偿期肝硬化患者肾功能减退, 体内合成扩血管因子能力降低, 因而容易导致患者发生肝肾综合征^[15].

总之, 失代偿期肝硬化患者低钠血症与肝肾综合征和肝性脑病的发生密切相关, 当血钠水平较低时, 肝肾综合征和肝性脑病发病率会随之增加, 导致患者预后较差. 因此在临床治疗中需要密切监测患者血钠水平, 以便及时评价患者病情和采取相应的治疗措施.

4 参考文献

- 1 张丽欣, 邢利和, 张丽丽, 陶其强, 刘影, 郭立杰, 董燕慧. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床效果研究. 中国全科医学 2010; 13: 2680-2682
- 2 李晶莹, 邓琪, 王燕, 徐铭益, 陆伦根. 终末期肝病模型联合血清钠对失代偿期肝硬化患者预后评估的价值. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 896-901
- 3 陈国庆. 终末期肝病的预后模型评分与失代偿期肝硬化预后关系研究. 中华实用诊断与治疗杂志 2012; 26: 615-616
- 4 Bajaj JS, Cordoba J, Mullen KD, Amodio P, Shawcross DL, Butterworth RF, Morgan MY. Review article: the design of clinical trials in hepatic encephalopathy--an International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) consensus statement. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 739-747 [PMID: 21306407 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04590.x]
- 5 尚佳, 曹青. 肝肾综合征的诊断. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 165-166
- 6 Kim JE, Lee JY, Kim YJ, Yoon JH, Kim SH, Lee JM, Han JK, Choi BI. Acoustic radiation force impulse elastography for chronic liver disease: comparison with ultrasound-based scores of experienced radiologists, Child-Pugh scores and liver function tests. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1637-1643 [PMID: 20800940 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.07.016]
- 7 Kim J, Jung Y. Increased aquaporin-1 and Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 expression in choroid plexus leads to blood-cerebrospinal fluid barrier disruption and necrosis of hippocampal CA1 cells in acute rat models of hyponatremia. *J Neurosci Res* 2012; 90: 1437-1444 [PMID: 22419034 DOI: 10.1002/jnr.23017]
- 8 向慧玲. 肝硬化低钠血症与Vaptans. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1244-1249
- 9 郭艳璞, 冯志杰. 肝硬化腹腔积液患者低钠血症与血管加压素和人尾加压素 II 关系研究. 中国全科医学 2010; 13: 237-239
- 10 王宇明. 肝硬化合并低钠血症-顽固性腹水-急性肾损伤的防治新认识. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 481-486
- 11 Delis S, Bakoyiannis A, Madariaga J, Bramis J, Tassopoulos N, Dervenis C. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients: the value of MELD score and Child-Pugh classification in predicting outcome. *Surg Endosc* 2010; 24: 407-412 [PMID: 19551433 DOI: 10.1007/s00464-009-0588-y]
- 12 高海兵, 潘晨, 林明华, 林太杰, 郑玲, 方建凯, 周锐. 乙型肝炎病毒相关肝功能衰竭预后因素分析及预后评估模型的构建. 中华传染病杂志 2013; 31: 347-352
- 13 张德建. 门冬氨酸鸟氨酸联合乙酰谷酰胺治疗肝性脑病患者的临床疗效. 中华消化病与影像杂志(电子版) 2012; 2: 322-324
- 14 张俊勇, 秦成勇, 贾继东, 王宝恩. 肝硬化患者血清钠特点及含钠终末期肝病模型对预后的判断价值. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 108-111
- 15 李贵星, 贺勇, 罗通行, 高宝秀, 聂鑫, 余萍, 张焕强. 一氧化氮水平、低钠血症和心功能对肝肾综合征发病的影响. 中华医学杂志 2011; 91: 2534-2537

■同行评价

本文设计合理, 方法恰当, 结果可信, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



海藻酸钠微球栓塞治疗肝细胞癌术后合并肝脓肿9例

李保国, 王海涛, 张炜浩, 郭志

■背景资料

回顾性分析采用海藻酸钠微球栓塞治疗肝细胞癌术后发生了肝脓肿的9例患者的临床资料, 分析其可能机制并提出有效预防及改善患者预后的实用处理办法。

李保国, 王海涛, 张炜浩, 郭志, 天津医科大学附属肿瘤医院介入治疗科 天津市肿瘤防治重点实验室 乳腺癌防治教育部重点实验室 天津市 300060

李保国, 主治医师, 主要从事肝、胆、胰腺肿瘤及其合并症的介入综合治疗。

作者贡献分布: 李保国与王海涛对此文所作贡献均等; 此课题由李保国、郭志及王海涛设计; 研究过程由李保国、王海涛、张炜浩及郭志操作完成; 数据收集由李保国提供; 数据分析由李保国、王海涛及张炜浩完成; 本论文写作由李保国、王海涛及张炜浩完成。

通讯作者: 郭志, 教授, 300060, 天津市河西区体院北环湖中路, 天津医科大学附属肿瘤医院介入治疗科, 天津市肿瘤防治重点实验室, 乳腺癌防治教育部重点实验室. dr_libao@163.com

电话: 022-23340123

收稿日期: 2013-07-26 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-08

Liver abscess after transarterial embolization for hepatocellular carcinoma with kelp micro gelatin: Analysis of 9 patients

Bao-Guo Li, Hai-Tao Wang, Wei-Hao Zhang, Zhi Guo

Bao-Guo Li, Hai-Tao Wang, Wei-Hao Zhang, Zhi Guo, Department of Interventional Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin; Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin 300060, China

Correspondence to: Zhi Guo, Professor, Department of Interventional Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Ti Yuan Beihuanhu Middle Road, Hexi District, Tianjin 300060, China. dr_libao@163.com
Received: 2013-07-26 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical characteristics, possible mechanisms and outcomes of liver abscess after transcatheter arterial embolization (TAE) with kelp micro gelatin (KMG) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Clinical data for HCC patients who were treated with KMG embolization and later developed liver abscess at our hospital from January 2008 to January 2009 were retrospectively reviewed.

RESULTS: In total, 583 HCC patients underwent TAE with KMG. TAE was given to each patient 1 to 4 times, with a total of 1749 times. Nine patients with massive HCC developed liver abscess. Typical clinical manifestations were varying degrees of liver pain on postoperative days 9-23, with or without remittent fever and chills. Main laboratory finding was a significant increase in white blood cells, and imaging examinations revealed signs of liver abscess. Factors possibly causing the development of liver abscess included the anatomic characteristics of blood vessels between the branches of HCC feeding arteries and intrahepatic bile duct feeding arteries, the physical and chemical properties of KMG, a hypervascular tumor, tumor burden, dose of embolic agent, embolization technique, local microenvironment and intestinal flora. Based on imaging findings, the following treatments could be given: timely and adequate drainage combined with anti-inflammatory therapy using full dose of effective antibiotics for sufficient course. The 9 patients recovered in 2 weeks to 2 months after treatment.

CONCLUSION: The development of liver abscess should be monitored in HCC patients undergoing TAE with KMG, especially when the tumor is hypervascular or massive, or when the patient consumes an excessive dose of KMG or too much normal tissue was embolized.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Kelp micro gelatin; Hepatocellular carcinoma; Transarterial embolization; Liver abscess

Li BG, Wang HT, Zhang WH, Guo Z. Liver abscess after transarterial embolization for hepatocellular carcinoma with kelp micro gelatin: Analysis of 9 patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3422-3428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3422.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3422>

摘要

目的: 探讨海藻酸钠微球栓塞治疗肝细胞癌

■同行评议者

禄韶英, 博士, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

(hepatocellular carcinoma, HCC)术后合并肝脓肿的临床特点、可能机制与其结局。

方法: 回顾性分析2008-01/2013-01我院收治的以海藻酸钠微球(kelp microgelation, KMG)栓塞治疗后合并肝脓肿的HCC患者的临床资料。

结果: 583例患者应用KMG栓塞治疗, 每例1-4次, 总计1749例次, 其中9例块状型HCC术后发生了肝脓肿。典型临床表现为术后9-23 d内出现的不同程度的肝区疼痛症状, 同时伴或不伴弛张高热和寒战症状; 实验室检查可见白细胞显著升高, 影像检查可见肝内脓肿形成表现。分析其可能机制: HCC与肝内胆管供血动脉分支之间血管解剖因素、KMG的理化特性、瘤体血供丰富程度、肿瘤负荷和栓塞剂量、栓塞技术、局部微环境与肠道菌群等为重要的影响因素。依据影像检查结果, 及时实施充分引流并联合敏感抗生素系统、足量、足疗程抗炎综合治疗后, 在2 wk-2 mo内痊愈。

结论: 应用KMG经肝动脉栓塞治疗HCC时, 在富血供、块状型病例中, 使用剂量过大或栓塞过多正常组织时有可能导致肝脓肿发生, 值得引起临床关注。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 海藻酸钠微球; 肝细胞癌; 选择性肝动脉栓塞术; 肝脓肿

核心提示: 海藻酸钠微球(kelp microgelation)为微球类长效栓塞剂, 栓塞后作用持久、组织坏死彻底。在富血供、块状型肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)病例中, 为避免严重并发症肝脓肿的发生, 应尽可能减少单次栓塞剂量、提高精准度分次栓塞, 避免过度; 术后密切随访, 出现脓肿后应及时、合理应用抗生素治疗, 具备穿刺引流条件时, 尽早实施引流。

李保国, 王海涛, 张炜浩, 郭志. 海藻酸钠微球栓塞治疗肝细胞癌术后合并肝脓肿9例. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3422-3428
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3422.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3422>

0 引言

海藻酸钠微球(kelp microgelation, KMG)是近年来逐渐在临床上推广使用的海藻酸盐类长效血管栓塞材料, 借助选择性肝动脉栓塞方法可显著改善不能手术的中晚期肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的生存获益^[1]。但是, KMG

栓塞治疗后部分病例有可能继发肝脓肿等罕见的严重并发症也日益成为血管性介入治疗临床研究所关注的重要问题之一。现将我院在2008-01/2013-01 KMG栓塞治疗术后合并肝脓肿的9例患者的病例资料总结报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-01/2013-01于我院采用KMG栓塞治疗的583例经肝穿刺活检明确诊断为HCC的患者, 按照BCLC分期标准为B期或C期不能接受手术治疗者的患者, 每例栓塞治疗1-4次, 总计1749例次; 其中9例患者术后发生了肝脓肿, 发生率占全部病例的1.54%(9/583), 男性8例, 女性1例, 年龄37-65岁, 平均年龄47岁。

1.2 方法

1.2.1 HCC栓塞治疗: 选择性肠系膜上动脉和肝动脉造影后, 明确肿瘤大小、数目、分布范围, 主要供血动脉分支及分支数目, 血供丰富程度, 有无肝动脉-门静脉瘘等异常血管分流, 有无门静脉瘤栓或门静脉主干闭塞征象。瘤体血管粗大、富血供者, 给予直径150-450 μm KMG栓塞; 瘤体血管纤细、乏血供者给予直径100-300 μm KMG栓塞。块状型(5 cm<瘤体直径<10 cm)行单次完全性栓塞; 巨块型(瘤体直径>10 cm)HCC给予分次部分栓塞, 单次栓塞体积控制在不超过总体积的50%-60%, 1 wk后补充栓塞残余肿瘤血管并实现完全性栓塞。栓塞程度均以瘤体栓塞区供血动脉出现返流、随访造影显示肿瘤血管床完全闭塞时停止。

1.2.2 合并肝脓肿临床诊断: KMG栓塞治疗术后短期内患者出现间断性或持续性肝区疼痛、高热, 复查血常规提示血液白细胞水平及中性粒细胞百分比显著高于正常水平, CT平扫及增强检查可见肿瘤靶区内出现密度不均匀减低区或液性密度, 排除胆囊或其他脏器异位栓塞等原因后即可诊断。

1.2.3 肝脓肿治疗: 诊断明确后即在B超或CT引导下行脓腔穿刺引流并对同时引流的脓液和血液给予细菌培养及药敏试验, 根据药敏试验结果给予敏感抗生素抗炎治疗, 合并厌氧菌感染者联合甲硝唑3-4次/d经引流管冲洗脓腔; 同时辅以保肝及静脉高能营养支持等处理。待临床症状消失、复查CT提示脓腔闭合、连续3次血液常规检查白细胞水平及中性粒细胞百分比均在正常范围后撤除引流导管。

■ 研发前沿

海藻酸钠微球(kelp microgelation, KMG)是近年来逐渐在临床上推广使用的海藻酸盐类长效血管栓塞材料, 可显著改善不能手术的中晚期肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的生存获益, 但目前对其使用后相关并发症的专门研究报道较少, 而肝脓肿又属于严重并发症, 若不能及时明确诊断及实施有效治疗, 预后多较差。

■ 相关报道

Marelli等曾经报道, TAE作为治疗中晚期HCC的有效方法之一, 疗效并不劣于最常用的选择性肝动脉化疗栓塞术, 但相同的TAE治疗, 在栓塞材料不同时疗效却存在显著差异. 微球类材料栓塞持续时间长, 疗效优于碘化油、明胶海绵等. KMG为近几年才逐渐推广的国产微球类材料, 其并发症的相关报道较少.

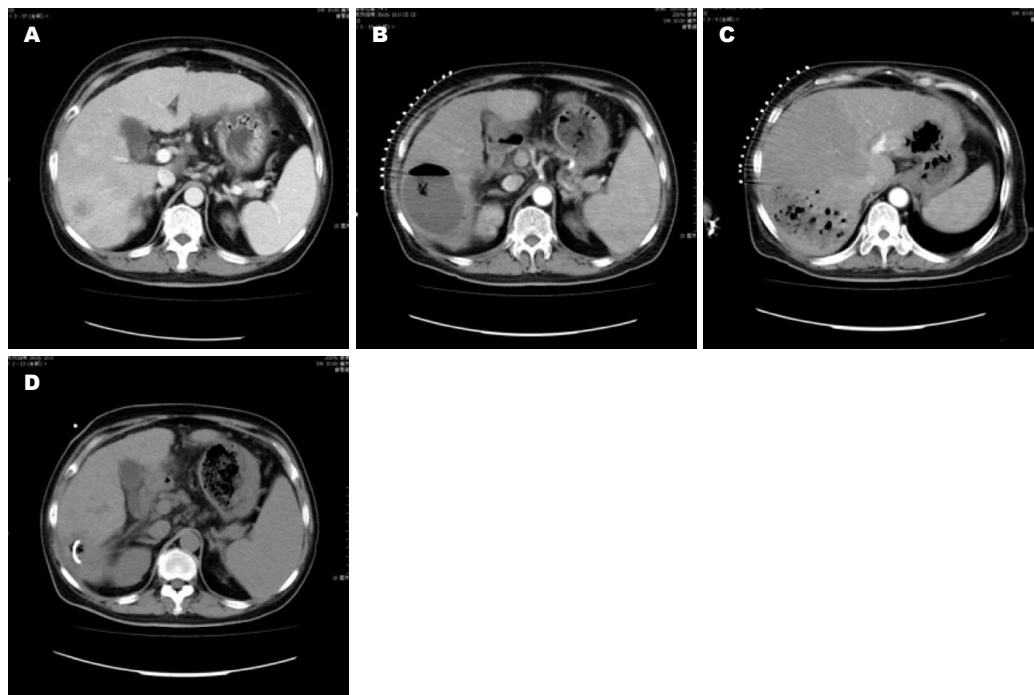


图1 巨块型HCC KMG栓塞治疗后出现单发的肝脓肿伴液平形成, 经穿刺引流及抗炎治疗后脓腔闭合. A: KMG栓塞治疗前增强CT扫描病灶呈巨块型、瘤体区明显强化; B: KMG栓塞治疗后CT平扫可见肝右叶单发脓肿伴液平形成; C: 同一病例, 肝脓肿下极尚未完全液化区; D: 穿刺引流术后肝脓肿脓腔闭合. 编辑: 郭鹏. 电编: 鲁亚静

表1 9例HCC患者KMG栓塞治疗合并肝脓肿前临床资料

编号	肿瘤特点			门脉瘤栓	血供特点	KMG微球 (μm)	栓塞次数	单次栓塞程度	栓塞剂量(g)
	<i>n</i>	大小(cm)	病灶位置						
1	1	9.0	右叶	无	富血供	100-300	1	完全栓塞	1.55
2	2	7.5	左叶	有	富血供	100-300	1	完全栓塞	0.9
3	2	13	右叶	无	乏血供	150-450	2	部分栓塞	0.6
4	1	6	左叶	无	富血供	100-300	1	完全栓塞	0.8
5	2	10	右叶	有	富血供	150-450	2	部分栓塞	1.3
6	1	8.4	右叶	无	乏血供	100-300	1	完全栓塞	0.7
7	3	9.7	右叶	无	富血供	150-450	1	完全栓塞	1.9
8	2	11	右叶	无	富血供	150-450	2	部分栓塞	2.2
9	4	14.5	右叶	有	富血供	150-450	2	部分栓塞	2.7

2 结果

本组9例患者发生肝脓肿前的临床资料按病灶数目、形态大小、分布部位、有无门静脉瘤栓、血供特点及栓塞剂直径、栓塞治疗次数、栓塞程度、单次栓塞剂使用剂量等分类列表如下(表1). (1)临床症状体征: 术后9-23 d内出现不同程度的肝区疼痛症状, 平均 14.89 ± 5.23 d; 同时伴有弛张高热和/或间断寒战, 体温最高可达 40.5°C ; 7例查体时有明确的肝区叩击痛; 1例合并黄疸症状; (2)实验室检查: 8例血白细胞 $>13 \times 10^9/\text{L}$ (88.9%)、7例中性粒细胞百分比 $>85\%$ (77.8%); 细菌培养结果6例为革兰阴性杆

菌、2例革兰阳性球菌、另1例为革兰阴性球菌.

(3)影像学检查: 8例患者CT扫描提示肝内单发类圆形低密度区, 范围与栓塞前肿瘤大小接近; 其中, 2例患者脓腔内见明显液气平面形成. 1例在病程中先后出现2个脓腔并且相互交通形成哑铃形不规则形密度不均匀减低区. 详细资料如表2.

经上述治疗后, 8例单发脓肿在16-33 d内脓腔闭合, 症状完全缓解, 如图1. 另外1例因引流过程中发热症状持续时间较长, 复查CT又发现远隔部位出现新的脓肿, 脓腔造影显示两脓腔借胆道相互交通, 呈“哑铃形”. 再次更换穿刺

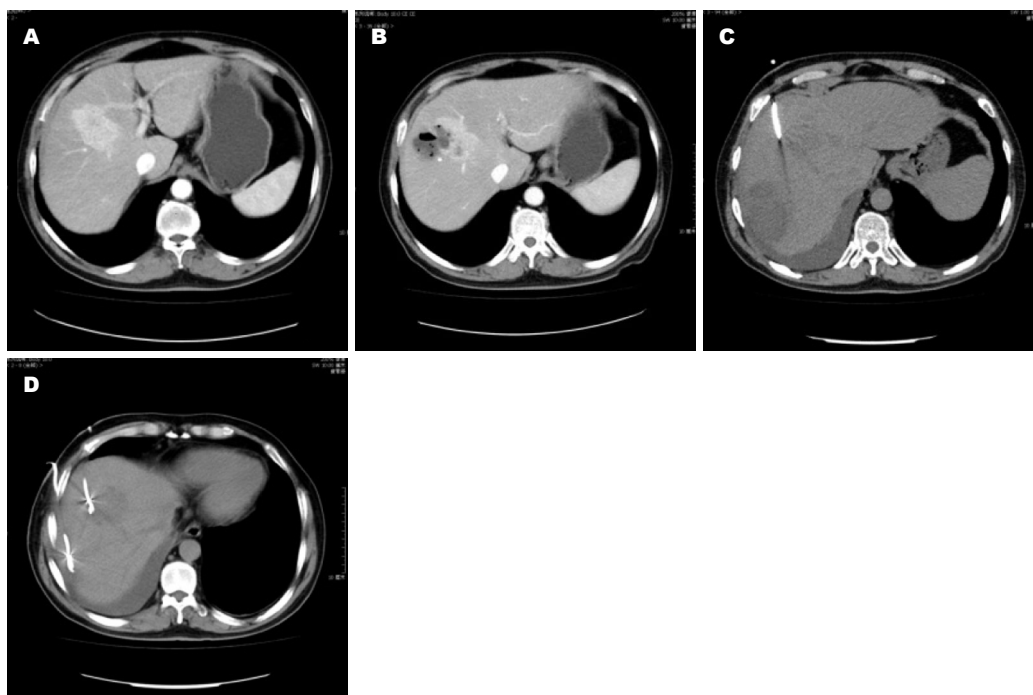


图 2 块状型HCC KMG栓塞治疗后临近肿瘤区域出现肝脓肿, 引流过程中复查CT发现异位新脓腔形成并与前者交通呈“哑铃形”, 实施双管引流后两脓腔均闭合。A: KMG栓塞治疗前CT增强图像, 肝右叶可见典型癌块征象; B: KMG栓塞后2 wk, 原发肿瘤部分坏死、瘤旁出现肝脓肿; C: 脓肿引流期间复查CT发现远隔部位新的脓肿形成; D: 双外引流管引流后两脓腔均闭合。

■创新盘点

目前应用KMG栓塞治疗HCC并没有广泛普及, 临床有关严重并发症诊治所积累的经验也相对较少。本研究通过对少见病例分析, 探讨了术后发生肝脓肿的可能机制并提出有效防治办法, 有助于今后临床应用借鉴并改善患者预后。

表 2 9例HCC患者KMG栓塞治疗合并肝脓肿时临床资料

编号	诊断时间(d)	临床表现	脓肿个数	细菌类型	WBC/N%		痊愈时间(d)
					$\times 10^9/L$	%	
1	17	疼痛、发热	1	大肠杆菌	19	87	26
2	21	发热	1	大肠杆菌	14.6	89	25
3	12	疼痛、发热、黄疸	1	屎肠球菌	17	88	31
4	19	发热	1	大肠杆菌	11	89	26
5	10	疼痛、发热	1	大肠杆菌	15	84	23
6	23	疼痛、发热	1	金黄色葡萄球菌	12.5	87	27
7	10	疼痛、发热	1	金黄色葡萄球菌	22	79	29
8	13	疼痛、发热40.5℃	2	铜绿假单胞菌	17.6	90	60
9	9	疼痛、发热	1	大肠杆菌	14	86	33

部位、置入新的引流管、扩大引流范围, 2 mo后痊愈, 如图2。本组病例中, 无因脓肿扩散或器官功能衰竭死亡患者; 但出现肝脓肿以后, 再次栓塞治疗的时间均被延后。

3 讨论

经导管选择性肝动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)通过栓塞肿瘤供血动脉分支, 导致肿瘤缺血、缺氧产生坏死, 是目前不能手术的中晚期HCC的首选非手术治疗手段, 可显著提高HCC患者的生存率并延长生存时间^[1]。

但是肿瘤病理解剖特征、栓塞材料特性与栓塞技术等多种因素都有可能影响栓塞治疗的临床获益并与栓塞后相关并发症的发生密切相关^[1-5]。现将本组使用KMG栓塞治疗后合并肝脓肿的病例特点及可能机制分析如下。

3.1 病例临床特点 (1) 瘤体负荷较大, 多发病灶、单个肝叶分布以及富血供为本组病例的典型特征。本组9例患者栓塞治疗前肿瘤最大直径介于6-14.5 cm之间, 平均 $9.9 \text{ cm} \pm 2.6 \text{ cm}$; 形态学上均隶属于块状型HCC, 其中巨块型4例; 单发病灶3例, 多发6例; 仅2例为乏血供肿瘤; (2) 单次栓

■应用要点

在富血供、块状型HCC病例中,应尽可能减少单次栓塞剂量、提高精准度分次栓塞,避免过度;术后密切随访。

塞剂使用剂量过大、完全性栓塞是本组病例的另一特点。9例患者中5例块状型使用KMG进行了单次栓塞,剂量均超过1.0 g;另外4例分成2次进行栓塞,每次KMG使用剂量也都在0.6 g以上,最后均实现了完全性栓塞;(3)栓塞治疗后,既有HCC相应的症状体征,又具有肝脓肿典型的临床表现也是其特征之一。9例患者均在使用KMG栓塞治疗后9-23 d内出现弛张高热、寒战以及上腹疼痛等典型的肝脓肿症状、体征;实验室检查可见白细胞、中性粒细胞水平显著升高;影像检查可见肿瘤区、瘤旁甚至远隔部位出现脓腔形成并在穿刺引流出脓液后证实。

3.2 KMG栓塞治疗HCC后继发肝脓肿可能机制分析

3.2.1 HCC与肝内胆管之间的血管解剖因素: HCC与肝内胆管血供的解剖特点是肝脓肿发生的前提。肝脏接受双重血管供应,正常肝组织的血液供应绝大部分来自门静脉,肝细胞癌组织的血供主要来自肝动脉^[6]。肝动脉分支常伸入到肿瘤中心,以细小分支向中心延伸。在块状型肝癌中,癌组织与非癌组织之间有一条明显的界沟,非癌侧的血管比较致密;表面被一不甚完整的血管壳包围,壳上血管彼此交织相通,血管壳越大、缺损也越多^[7]。肝内胆管则由肝动脉的左、右分支形成的非轴性动脉网供血,肝动脉的终末支一部分参与大、中Glisson鞘中稀疏的门脉周围血管丛,大部分分支形成胆管周围毛细血管瘤丛(peribiliary plexus, PBP)并作为胆管直接的血供来源^[6];PBP对维持胆管上皮细胞结构和功能的完整性起至关重要的作用^[8,9]。如果肝动脉的血液不能充足供应胆管,胆管缺血缺氧,胆管上皮很容易损伤、坏死而继发感染^[10]。

3.2.2 KMG的理化特性: KMG为永久性、适形栓塞材料,栓塞同级血管时能彻底阻断血供。KMG是以海藻酸钠为主料制成的以固体形态存在的细小颗粒状生物可降解栓塞剂,具有良好的生物相容性,进入血管后KMG微球能自身膨胀并与血液中的钙离子络合并产生大分子链间交联固化,使所有侧支血管闭塞,将靶血管永久性栓塞、彻底阻断肿瘤供血,且降解时间较长,能够使靶区内肿瘤组织完全性坏死^[11]。但KMG栓塞提高栓塞效能的同时也增加了胆管发生不可逆性损伤的机会,胆管供血动脉由于直接栓塞或因为异常交通支间接栓塞后使得胆管缺血、缺氧,继而出现管腔变小或闭塞,胆管黏膜坏死脱

落,管壁纤维化增厚;导致病变部位以上胆管管腔增大,管壁变薄,甚至形成胆汁瘤而继发感染。这一现象即使在使用碘化油、明胶海绵等栓塞材料时也可见报道,但后两者的发生概率相对较低^[12-16]。

3.2.3 HCC瘤体血供、肿瘤负荷与栓塞剂剂量: 肿瘤的血供丰富程度、瘤体负荷大小共同决定栓塞剂的使用剂量^[17]。肿瘤负荷大、瘤体血供丰富、血管分支多,单位体积内所需栓塞剂量也就越大。碘油、明胶海绵等栓塞剂的相关研究表明,栓塞剂在瘤内的初期积聚与HCC的血供有直接关系,块状型、富血供HCC,碘油沉积显著多于乏血供瘤体;但碘化油和明胶海绵属短效、易降解栓塞材料,受血流的冲刷、单核巨噬细胞吞噬系统的清除及丰富的侧支循环等因素作用,使得块状型HCC栓塞治疗后,栓塞剂有可能出现再次分布或在短期内被不同程度的清除而获得新的血供来源,瘤体及瘤内与胆管供血动脉相互交通的血管分支不易出现持久或完全性栓塞、坏死程度相对较轻,肝脓肿的发生并不多见^[18-20]。本组病例病灶直径都在5 cm以上,4例直径超过10 cm,仅2例为乏血供肿瘤;基于上述临床实践证据结论:在治疗4例巨块型HCC时,为避免术后瘤体大量坏死后继发感染或其他严重并发症而提前确定了分次栓塞的治疗方案;但治疗后也同样出现了肿瘤细胞大量坏死并伴有瘤区内胆管细胞坏死表现,只是临床症状、体征较一次性栓塞的反应程度稍有减轻。这也表明,使用大剂量KMG栓塞治疗富血供、巨块型HCC时,瘤体缺血、坏死的范围较同等程度的碘化油和明胶海绵等栓塞材料显著增大,肝脓肿发生的风险也相应增加。

3.2.4 栓塞技术影响: 超选择、精准栓塞瘤体供血动脉可以减少对瘤体周围正常组织的损伤^[21,22]。KMG微球同明胶海绵颗粒一样在X线下不能够像超液化碘油一样可实时显影、追踪,可控性相对较差,有可能返流至正常组织的血供分支,导致异位栓塞,也从而影响栓塞治疗的结局并增大肝脓肿发生的风险。

3.2.5 局部微环境与胆道、肠道菌群: 肝内胆管供血动脉分支或交通支异常栓塞之后,正常胆管结构即被破坏,缺血缺氧,局部微环境发生改变;无菌性坏死区为细菌生长提供了良好繁殖空间,一旦胆道、肠道内寄生细菌逆行进入坏死区而免疫细胞又不能及时到达清除,即可进

行大量繁殖并导致肝脓肿的形成^[23]。本组病例细菌学检测结果表明: 大肠杆菌是最为常见的致病菌, 约占56%, 金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌以及尿肠球菌也可在血液或脓液标本中培养获得, 其中有3例还同时伴有厌氧菌感染。

本研究结果显示应用KMG栓塞治疗HCC时, 在富血供、块状型尤其是巨块型HCC患者中, 当使用剂量过大或同时栓塞过多正常组织时, 有可能导致严重并发症肝脓肿的发生并影响患者的生活质量; 临床工作者应给予足够重视, 术后应根据临床表现及早识别并采取积极有效的治疗措施。

结合本中心临床应用经验, 建议可从以下几个方面预防: (1)块状型尤其巨块型HCC宜采取短周期、分次栓塞, 减少单次用量; (2)富血供HCC应选择相应直径的KMG, 尽可能减少使用剂量、避免过度栓塞; (3)栓塞前仔细造影明确肿瘤血供特点及供血范围, 尽可能实施精准栓塞, 减少对正常结构损伤; (4)有感染或脓肿形成证据时, 及早实施穿刺引流; 结合药敏试验结果, 及时、足量、足疗程使用敏感抗生素; (5)运用循证临床实践思维, 采集最佳证据, 结合患者实际情况考虑使用。

4 参考文献

- 1 李保国, 温浩, 郭志. 海藻酸钠微球栓塞治疗术后复发性肝细胞癌40例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1504-1508
- 2 Xie F, Zang J, Guo X, Xu F, Shen R, Yan L, Yang J, He J. Comparison of transcatheter arterial chemoembolization and microsphere embolization for treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 455-462 [PMID: 22179199 DOI: 10.1007/s00432-011-1117-7]
- 3 Guin B, Deschamps F, Aho S, Munck F, Dromain C, Boige V, Malka D, Lebouilleux S, Ducreux M, Schlumberger M, Baudin E, de Baere T. Liver/biliary injuries following chemoembolisation of endocrine tumours and hepatocellular carcinoma: lipiodol vs. drug-eluting beads. *J Hepatol* 2012; 56: 609-617 [PMID: 22027582 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.012]
- 4 Hemingway AP, Allison DJ. Complications of embolization: analysis of 410 procedures. *Radiology* 1988; 166: 669-672 [PMID: 3340761]
- 5 Chung JW, Park JH, Han JK, Choi BI, Han MC, Lee HS, Kim CY. Hepatic tumors: predisposing factors for complications of transcatheter oily chemoembolization. *Radiology* 1996; 198: 33-40 [PMID: 8539401]
- 6 李文岗, 黄志强. 肝动脉与肝胆管系统: 胆管周围血管丛的研究. 消化外科 2005; 4: 68-72
- 7 赵文龙, 段积华. 肝细胞癌微循环与血供. 微循环学杂志 1994; 4: 41-42
- 8 Gaudio E, Onori P, Franchitto A, Pannarale L, Alpini G, Alvaro D. Hepatic microcirculation and cholangiocyte physiopathology. *Ital J Anat Embryol* 2005; 110: 71-75 [PMID: 16101023]
- 9 Gaudio E, Franchitto A, Pannarale L, Carpino G, Alpini G, Francis H, Glaser S, Alvaro D, Onori P. Cholangiocytes and blood supply. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3546-3552 [PMID: 16773711]
- 10 Beaussier M, Wendum D, Fouassier L, Rey C, Barbu V, Lasnier E, Lienhart A, Scoazec JY, Rosmorduc O, Housset C. Adaptive bile duct proliferative response in experimental bile duct ischemia. *J Hepatol* 2005; 42: 257-265 [PMID: 15664253 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.10.025]
- 11 百宏灿, 郑瑞峰, 张燕齐, 徐建林, 杨泉. 海藻酸钠微球栓塞剂脾动脉栓塞治疗脾功能亢进42例. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 4422-4423
- 12 Yu JS, Kim KW, Park MS, Yoon SW. Bile duct injuries leading to portal vein obliteration after transcatheter arterial chemoembolization in the liver: CT findings and initial observations. *Radiology* 2001; 221: 429-436 [PMID: 11687687]
- 13 王茂强, 林汉英, 戴光海. 经导管肝动脉化疗栓塞术后胆管损伤的临床意义. 介入放射学杂志 2005; 14: 493-497
- 14 Sakamoto I, Aso N, Nagaoki K, Matsuoaka Y, Uetani M, Ashizawa K, Iwanaga S, Mori M, Morikawa M, Fukuda T, Hayashi K, Matsunaga N. Complications associated with transcatheter arterial embolization for hepatic tumors. *Radiographics* 1998; 18: 605-619 [PMID: 9599386]
- 15 Ong GY, Changchien CS, Lee CM, Wang JH, Tung HD, Chuah SK, Chiu KW, Chiou SS, Cheng YF, Lu SN. Liver abscess complicating transcatheter arterial embolization: a rare but serious complication. A retrospective study after 3878 procedures. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 737-742 [PMID: 15256974 DOI: 10.1097/01.meg.0000108361.41221.8c]
- 16 Huang SF, Ko CW, Chang CS, Chen GH. Liver abscess formation after transarterial chemoembolization for malignant hepatic tumor. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1115-1118 [PMID: 12845993]
- 17 Takaki S, Sakaguchi H, Anai H, Tanaka T, Yamamoto K, Morimoto K, Nishiofuku H, Inoue M, Sueyoshi S, Nagata T, Hidaka T, Uchida H, Kichikawa K. Long-term outcome of transcatheter subsegmental and segmental arterial chemoembolization using lipiodol for hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2012; 35: 544-554 [PMID: 21739345 DOI: 10.1007/s00270-011-0224-9]
- 18 Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 6-25 [PMID: 17103105 DOI: 10.1007/s00270-006-0062-3]
- 19 Maluccio MA, Covey AM, Porat LB, Schubert J, Brody LA, Sofocleous CT, Getrajdman GI, Jarnagin W, Dematteo R, Blumgart LH, Fong Y, Brown KT. Transcatheter arterial embolization with only particles for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2008; 19: 862-869 [PMID: 18503900 DOI: 10.1016/j.jvir.2008.02.013]
- 20 Song SY, Chung JW, Han JK, Lim HG, Koh YH, Park JH, Lee HS, Kim CY. Liver abscess after transcatheter oily chemoembolization for hepatic tumors: incidence, predisposing factors, and clinical outcome. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 313-320 [PMID: 11287508 DOI: 10.1016/S1051-0443(07)61910-1]
- 21 Shimohira M, Ogino H, Kawai T, Sakurai K, Nak-

同行评价

本文具有一定的临床实用价值, 值得借鉴。

- agawa M, Shibamoto Y. Clinical usefulness of the triaxial system in super-selective transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Acta Radiol* 2012; 53: 857-861 [PMID: 22850577 DOI: 10.1258/ar.2012.120044]
- 22 Matsui O, Kadoya M, Yoshikawa J, Gabata T, Arai K, Demachi H, Miyayama S, Takashima T, Unoura M, Kogayashi K. Small hepatocellular carcinoma: treatment with subsegmental transcatheter arterial embolization. *Radiology* 1993; 188: 79-83 [PMID: 8390073]
- 23 胡立华, 陈鹏, 田琳, 张沛怡. 胆源性肝脓肿42例临床分析. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 149-150

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

恶性高位梗阻性黄疸的介入疗效评价及引流方式选择

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 杨光, 茆英利, 李博, 殷风华

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 杨光, 茆英利, 李博, 殷风华, 河北医科大学第四医院放射科 河北省石家庄市 050011
艾宁, 2006年获河北医科大学硕士学位, 主治医师, 主要从事影像诊断及肿瘤介入治疗研究。

作者贡献分布: 此研究课题由艾宁、李智岗、李顺宗及杨光设计完成; 研究过程由艾宁、茆英利、李博及殷风华操作完成; 李博与殷风华提供影像资料及随访工作; 数据分析由杨光与艾宁完成; 本文文写作由李智岗、艾宁及李博完成。

通讯作者: 李智岗, 主任医师, 050011, 河北石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院放射科. aining1@163.com
电话: 0311-86095379

收稿日期: 2013-09-10 修回日期: 2013-09-27

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

Efficacy of percutaneous transhepatic biliary drainage in treatment of high malignant biliary obstruction

Ning Ai, Zhi-Gang Li, Shun-Zong Li, Guang Yang, Ying-Li Chang, Bo Li, Feng-Hua Yin

Ning Ai, Zhi-Gang Li, Shun-Zong Li, Guang Yang, Ying-Li Chang, Bo Li, Feng-Hua Yin, Department of Radiology, the 4th Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Correspondence to: Zhi-Gang Li, Chief Physician, Department of Radiology, the 4th Hospital of Hebei Medical University, 12 Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. aining1@163.com

Received: 2013-09-10 Revised: 2013-09-27

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effect of percutaneous transhepatic biliary drainage and biliary stent placement in patients with malignant hilar biliary obstruction to provide a basis for clinical selection of appropriate treatments.

METHODS: Clinical data for 76 patients with malignant hilar biliary obstructive jaundice treated at the Fourth Hospital of Hebei Medical University were analyzed retrospectively. Forty-two patients were men and 34 were women. Their age ranged from 42 to 76 years, with a mean value of 64.2 years. The majority of patients (42/69) had hilar bile duct carcinoma or postoperative recurrence. Other primary diseases included gallbladder carcinoma ($n = 13$), liver

cancer ($n = 6$), hepatic metastasis of pancreatic, gastric and cardiac cancer ($n = 14$). Based on the Bismuth-Corlette classification, we divided the cases into five types: I ($n = 16$), II ($n = 23$), IIIa ($n = 19$), IIIb ($n = 3$) and IV ($n = 15$). All patients had complete clinical data, stable diseases and no absolute contraindications on intervention. Renal and liver function was examined in all patients to estimate the decreasing range of total bilirubin, which can be an index of short-term curative effect. The differences in total bilirubin change and survival between the unilateral and bilateral drainage groups were also compared.

RESULTS: Total bilirubin decreased significantly after treatment ($338.52 \text{ mmol/L} \pm 93.21 \text{ mmol/L}$ vs $128.13 \text{ mmol/L} \pm 52.17 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$). The decrease in total bilirubin showed no significant difference between the unilateral drainage group and the bilateral drainage group ($99.19 \text{ mmol/L} \pm 53.81 \text{ mmol/L}$ vs $104.62 \text{ mmol/L} \pm 63.12 \text{ mmol/L}$, $P > 0.05$). There was also no significant difference in survival rate between the unilateral drainage group and bilateral drainage group.

CONCLUSION: For high obstructive jaundice, multi-channel drainage is preferred. For patients with Bismuth III-IV disease, biliary drainage can also achieve satisfactory therapeutic effect. Biliary drainage and stent placement are safe and effective methods for relieving biliary obstruction, reducing bilirubin and lengthening the survival time.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Malignant obstructive jaundice; Interventional therapy; Percutaneous transhepatic biliary drainage; Biliary stent

Ai N, Li ZG, Li SZ, Yang G, Chang YL, Li B, Yin FH. Efficacy of percutaneous transhepatic biliary drainage in treatment of high malignant biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3429-3434 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3429>

■背景资料

恶性高位梗阻性黄疸是指恶性肿瘤所导致的肝总管及汇管区的阻塞, 由于部分患者处于肿瘤晚期, 手术效果不理想, 经皮肝穿刺引流操作方便, 适合本病的治疗, 由于梗阻部位较高, 使得介入医师在引流方式及支架置入选择上存在分歧。

■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

■ 研究前沿

在高位梗阻性黄疸引流方式选择上, 介入学界存在争议, 争论的焦点在于高位肝门梗阻所导致的肝左右支胆管甚至多分支胆管不通时, 选择优势侧的部分引流还是多支多通道的充分引流作为减黄的合适方法, 不同学者的认识分歧较大, 选择合理的治疗方案对改善患者症状至关重要。

摘要

目的: 探讨恶性高位胆道梗阻患者经皮肝胆道引流方式及胆道支架置入对术后疗效影响, 为临床选择适当的治疗方式提供依据。

方法: 河北医科大学第四医院介入放射科2009-05/2013-03诊治的76例恶性高位梗阻性患者, 其中男性42例, 女性34例, 年龄42-78岁, 平均64.2岁, 其中肝门部胆管癌及术后复发42例, 胆囊癌13例, 肝癌6例, 胰腺癌、胃癌及贲门癌肝门部转移15例。参照肝门部胆管癌的Bismuth-Corlette分型, 将肝门部胆道梗阻分为5型, I型16例, II型23例, IIIa型19例, IIIb型3例, IV型15例。根据引流方式及支架置入数量将治疗患者分为单侧引流组及双侧引流组, 根据是否有左右支胆管完全分离将单侧引流组分为完全引流组及优势侧引流组。术后4 wk复查, 以总胆红素下降幅度作为近期疗效的观察指标, 并观察单侧引流组与双侧引流组指标的差异性。引流术后各组间总胆红素的下降值用两样本 t 检验, 非参数乘积限估计法(Kaplan-Meier)进行生存期分析。

结果: 治疗后总胆红素下降明显, 由 $338.52 \text{ mmol/L} \pm 93.21 \text{ mmol/L}$ 降至 $128.13 \text{ mmol/L} \pm 52.17 \text{ mmol/L}$ 差异具有显著统计学意义($P < 0.05$)。单侧引流组总胆红素下降值为 $99.19 \text{ mmol/L} \pm 53.81 \text{ mmol/L}$, 双侧引流组总胆红素下降值为 $104.62 \text{ mmol/L} \pm 63.12 \text{ mmol/L}$, 下降值两样本 t 检验示 $P > 0.05$, 无显著性差异。单侧引流组和双侧引流组生存率分别进行Kaplan-Meier分析, 差异无显著性。

结论: 对于高位梗阻性黄疸, 多支多通道引流通畅是治疗原则, 但对于Bismuth III-IV型患者, 优势侧胆管充分引流也可达到满意的治疗效果。经皮肝穿刺引流或内支架治疗仍是治疗高位胆道梗阻的有效姑息方法, 可明显提高患者生活质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 恶性梗阻性黄疸; 介入治疗; 经皮肝穿胆管引流; 胆道支架

核心提示: 对于Bismuth I型胆道梗阻, 由于左右胆管仍有互通, 故可选择单侧支架; 对于Bismuth II型, 造影时左右胆管仍有细线状交通, 应尽量应用双导丝行双侧引流, 对于Bismuth III-IV型, 则以两侧同时引流双支架置放甚至多支分别引流作为首选, 结合患者的耐受情况如出现严重的胆心反射影响患者继续治疗及优势侧胆管所占

比例, 部分患者可以置放优势侧胆管单引流及支架置入, 效果较理想, 同样可以达到改善患者生存质量及顺利开展后续治疗的效果。

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 杨光, 茆英利, 李博, 殷风华. 恶性高位梗阻性黄疸的介入疗效评价及引流方式选择. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3429-3434 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3429>

0 引言

恶性高位梗阻性黄疸是指恶性肿瘤所导致的肝总管及汇管区的阻塞, 常见的病因为肝门部胆管癌, 累及汇管区的临近器官肿瘤如胆囊癌等, 此外, 转移至肝门的恶性肿瘤也是引起恶性胆道阻塞的原因之一, 原发灶常来源于胃肠道。由于部分患者处于肿瘤晚期, 且伴有严重黄疸, 围手术期难以平稳度过, 手术效果不理想。经内镜途径放置胆道支架, 由于内镜经过的通道为胃肠道, 存在污染可能, 不能保证无菌环境, 如若不能充分引流, 胆道感染将在所难免^[1]。经皮肝穿刺引流(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)操作方便, 适合本病的治疗, 大量文献报道疗效确切。由于肝门部解剖位置的特殊性, 胆管梗阻部位较高, 特别是肝内多支胆管梗阻的情况使得介入医师在引流方式及支架置入选择上存在分歧, 目前对于不同引流方式对临床疗效的比较研究报道较少。河北医科大学第四医院2009-05/2013-03共收治76例恶性高位梗阻性患者, 比较分析不同治疗方式对于介入术后的疗效影响, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组患者76例, 其中男性42例, 女性34例, 年龄42-78岁, 平均64.2岁, 其中肝门部胆管癌及术后复发42例, 胆囊癌13例, 肝癌6例, 胰腺癌、胃癌及贲门癌肝门部转移15例。患者主要临床表现为皮肤及巩膜进行性加重的黄染, 或伴有上腹部胀满不适, 恶心呕吐、陶土样大便、发热等, 部分患者有皮肤瘙痒。黄疸持续时间为1 wk-2 mo。参照肝门部胆管癌的Bismuth-Corlette分型^[2], 将肝门部胆道梗阻分为5型, I型16例, II型23例, IIIa型19例, IIIb型3例, IV型15例。所有患者术前临床资料完整, 均进行上腹部强化CT治疗, 32例患者行核磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查, 影像资料显示梗阻部位位于胆总

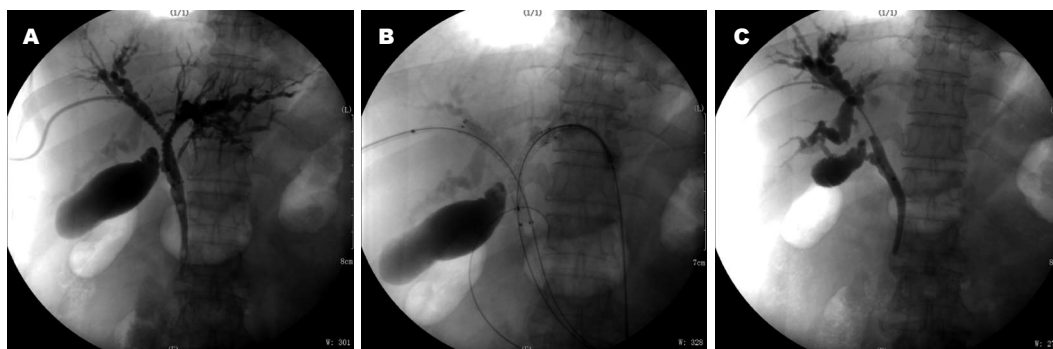


图1 患者女性, 64岁, 胆管癌。A: 右侧穿刺入路后显示肝左右支胆管不相通; B, C: 左侧胆管穿刺后置入双导丝并放置双支架呈“Y”形, 胆管造影双侧胆管引流通畅, 顺利进入胆总管。

管上段、肝左右支胆管汇合区或更高水平, 从而导致肝左右支胆管不相通甚至肝管次级分支不相通, 梗阻上方胆管不同程度扩张。所有患者均无大量难以控制的腹水, 术前病情稳定, 常规行心电图、血常规、凝血功能及肝肾功能检查, 无绝对介入禁忌症, 均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案: 治疗在导管室数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)透视监视下完成操作。以右侧腋中线约9-10肋间作为右侧入路穿刺点, 以剑突下右侧旁开约0.5 cm为左侧入路穿刺点。通常先选择右侧入路, 但如有右侧穿刺困难或左肝胆管扩张更明显时则先选择左侧剑突下入路。如右侧入路后导丝不能通过肝右管-肝左管狭窄段建立工作通道或肝左右支胆管完全分离时, 视情况同时行双侧穿刺。以22 G千叶针行胆管穿刺, 一般选择扩张明显的2级以上分支的胆管, 保证穿刺点胆管距梗阻胆管>2 cm以上, 造影证实后经导丝引入扩张管, 经扩张管引入超滑泥鳅导丝, 以导丝探查狭窄段, 如能通过阻塞段进入胆总管及十二指肠则引入8 mm球囊导管行狭窄段球囊扩张, 测量梗阻段长度后选择合适胆道支架置入, 内支架长度应超过病灶两端≥2 cm, 并放置8.5 F的内外或外引流管。导丝不能通过狭窄段及部分肝内多支胆管梗阻患者选择扩张明显的优势侧胆管行外引流管置入。

1.2.2 术后处理: 术后密切观察患者腹部体征, 并给予抗感染、止血、抑酸及保肝治疗, 记录24 h胆汁引流量并隔日行胆道冲洗, 如患者有感染征象则行胆汁药敏试验, 根据结果调整用药, 每周复查血常规及肝肾功能, 并注意水电解质的平衡。

1.2.3 评价指标: 将治疗患者分为单侧引流组及

双侧引流组, 根据是否有左右支胆管完全分离将单侧引流组分为完全引流组及优势侧引流组。术前均行肝肾功能检查, 术后4 wk复查, 以总胆红素下降值作为近期疗效的观察指标, 观察单侧引流组与双侧引流组指标的差异性, 并对患者远期黄疸情况及生存期随访观察。

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件, 引流术后各组间总胆红素的下降值用两样本的 t 检验, 对不同类型高位胆道梗阻治疗的有效性 & 高位梗阻单双侧治疗对疗效的影响行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。非参数乘积限估计法(Kaplan-Meier)进行生存期分析。

2 结果

2.1 方式选择 所有患者均一次性介入治疗成功, 部分不愿置入支架及术中出现胆心反射不能继续手术的患者仅行单管引流26例, 其中I型3例, II型9例, IIIa型6例, IV型8例, 行单侧PTCD同时行支架治疗38例, 其中I型13例, II型8例, IIIa型10例, IIIb型2例, IV型5例, 9例患者曾应用双导丝进行左右支胆管骑跨引流, 即外引流管远端位于左侧肝管, 近端引流管头端标志位于右侧肝管内; 行双侧入路PTCD 12例, II型6例, IIIa型3例, IIIb型1例, IV型2例。76例患者中有13例患者置入双支架, 其中II型5例, IIIa型5例, IV型3例, 6例为双侧穿刺分别建立“肝右管-肝总管”及“肝左管-肝总管”工作通道, 使支架重叠为“Y”型, 7例行单侧入路双导丝分别置入肝左管及肝总管内, 建立“肝左管-肝右管-肝总管”工作通道, 使肝左右胆管间搭桥, 支架呈“T”型。(图1-3)

2.2 PTCD胆道造影表现 术中患者胆管不同程度的狭窄扩张, 根据不同Bismuth-Corlette分型, 其表现也存在差异性。IV型患者表现肝内多支狭

■ 相关报道

支持充分引流的学者关注于胆管炎的发生率, 并认为不能充分引流梗阻胆管会导致黄疸症状缓解不彻底, 进而影响临床疗效。钱晓军等将恶性高位胆道梗阻患者分为单侧与双侧引流, 认为双侧比单侧引流效果明显, $P<0.05$; 支架较引流管引流明显有效, $P<0.05$; 主张多支多通道引流, 并放置内支架。而支持部分引流的学者多基于一项被广泛引用的研究, 即25%肝胆管得到引流即可获得相对较满意的临床效果。目前这两大派别的争论仍在继续, 需要进一步大量病例的研究分析以取得详尽的结论。

■创新盘点

本文在其他研究的基础上进一步分析了不同Bismuth分型的引流方式特点,在研究后认为不能简单决定某种治疗方式优劣性,而应根据胆管造影及患者的耐受情况采取符合患者自身条件的治疗方案,在临床疗效与患者术后并发症间寻找平衡点。

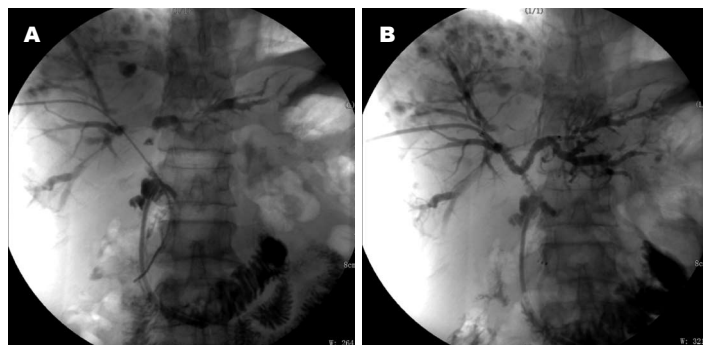


图2 患者男性, 54岁, 胃癌术后肝转移。A: 胆管造影显示肝左右胆管间狭窄; B: 以单通道双导丝分别建立“肝左管-肝右管-肝总管”工作通道, 支架呈“T”形, 使左右支胆管间引流通畅。

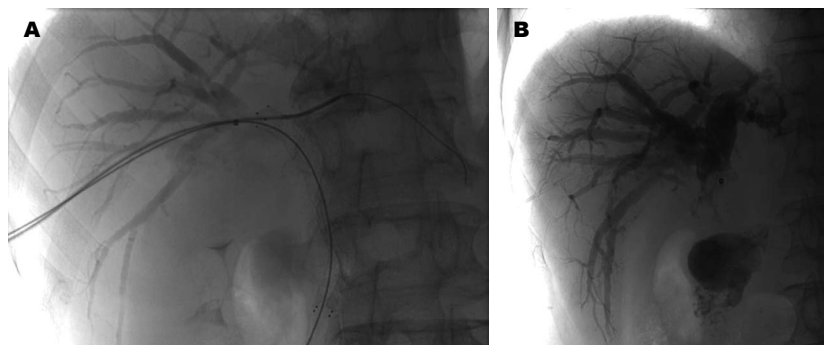


图3 患者男性, 69岁, 胆管癌。A: 以单通道置入双导丝; B: 行肝右胆管支架置入及肝左右胆管跨跨引流。

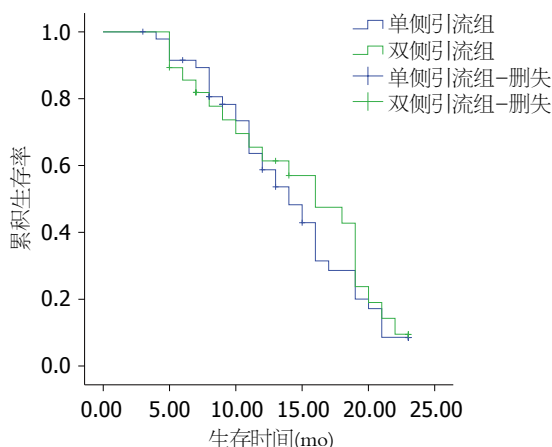


图4 单侧引流组与双侧引流组生存率比较。

窄胆管呈礼花状多支狭窄。术后常规3-4 wk复查胆道造影, 19例患者证实胆道内支架通畅, 肝内胆管无明显扩张, 予以引流管拔除。双支架患者胆道支架膨胀良好, 胆汁引流通畅。8例患者出现支架内再狭窄, 行球囊扩张治疗。

2.3 疗效评价 治疗后4 wk复查总胆红素下降明显, 由术前 $338.52 \text{ mmol/L} \pm 93.21 \text{ mmol/L}$ 降至 $128.13 \text{ mmol/L} \pm 52.17 \text{ mmol/L}$, t 检验差异具有显著统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

随访4-23 mo, 对单侧引流组和双侧引流组生存率分别进行Kaplan-Meier分析, 绘制生存曲线(图4)。两者Log-rank检验显示生存率没有显著性差异($P = 0.602$)。

2.4 并发症 术后住院观察5-36 d, 胆道感染11例, 给予抗感染治疗; 发热12例; 引流管移位脱落9例; 支架再狭窄8例; 引流管渗液7例; 呃逆1例。所有患者均无胆汁性腹膜炎的产生。

3 讨论

在恶性梗阻性黄疸的临床实践中, 与内镜的高失败率及并发症相比^[3], 经皮肝穿刺引流(PTCD)及支架置入治疗方案优势明显, 尤其是对III、IV型患者尤应慎重, 估计切除可能性不大者应尽量减少手术探查, 而采用介入治疗^[4]。通过术前充分评估影像学资料, 不能根治性切除者首选介入引流, 从而使二期手术切除率明显提高^[5]。目前作者所在医院的非手术治疗均采用上述方案。即便如此, 在具体实施方案上, 介入学界仍存在争议, 争论的焦点在于高位的肝门梗阻所导致的肝左右支胆管甚至多分支胆管不通时, 选择优势侧的部分引流还是多支多通道的充分引流作为减黄的合适方法, 不同学者的认识分歧较大。

3.1 目前对于引流方式的研究现状 支持充分引流的学者关注于胆管炎的发生率, 并认为不能充分引流梗阻胆管会导致黄疸症状缓解不彻底, 进而影响临床疗效^[6]。钱晓军等^[7]将恶性高位胆道梗阻患者分为单侧与双侧引流, 认为双侧比单侧引流效果明显, $P < 0.05$; 支架较引流管引流明显有效, $P < 0.05$; 主张多支多通道引流, 并放置

表 1 不同引流方式术后胆红素下降值的对比分析 (mean \pm SD, mmol/L)

组别	n	胆红素下降值	P值
单侧引流组	48	99.19 \pm 53.81	>0.05
双侧引流组	28	104.62 \pm 63.12	
单侧完全引流组	33	125.16 \pm 62.81	>0.05
单侧优势侧引流组	21	119.62 \pm 57.13	
单枚支架	31	139.67 \pm 55.86	<0.05
单枚引流管	26	84.67 \pm 54.81	

内支架. 而支持部分引流的学者多基于一项被广泛引用的研究, 即25%肝胆管得到引流即可获得相对较满意的临床效果^[8,9]. 在一项关于恶性肝门部梗阻性黄疸PTCD治疗的Meta分析中, 10项575例单支架置入及13项340例双侧支架置入的文献资料显示, 行双侧支架置入的患者在总体并发症的发生率及黄疸的缓解程度上要优于单侧支架置入的患者, 但在胆管炎的发生率及30 d的生存率上两者无明显差异^[10]. Vavid^[11]分析认为, 目前的大多数研究局限于回顾性研究, 研究者对于已治疗患者胆管梗阻部位的多样性、入组患者的健康状况、肿瘤分期及肝功能等情况难以进行评估及控制, 从这些未经实验设计分组的病例中进行回顾性分析会导致研究结果偏颇, 从而引发广泛争议. 其研究认为单双侧引流及支架置入在患者的总生存期及支架的平均开放时间上没有显著性差异, 但对于伴有胆管炎的Bismuth IV型患者, 则需要更为积极的治疗方案以解决未完全引流的梗阻胆管.

3.2 对治疗方式选择的经验分析 Bismuth I型患者与低位胆管梗阻治疗方式上差别不大. 对于双导丝置入行双侧引流, 如果左右肝管夹角 $>90^\circ$, 行单通道双侧支架置入及引流成为可能, 置入支架呈“T”形, 但若左右肝管夹角 $<90^\circ$, 则同时行左侧胆管PTCD, 双侧分别引入导丝行支架置入, 双支架呈“Y”形. 双支架置入后有部分是重叠或交叉的, 达到加强支撑和共同引流的效果, 术后开放率高, 且置入单根引流管即可达到双侧引流、造影及胆道冲洗的效果^[12]. 本组11例双支架置入患者, 术后复查胆管造影均显示支架膨胀良好, 胆汁流入十二指肠通畅, 胆管扩张改善明显. 另有9例患者因经济因素及预期生存期短而放弃双支架置入, 仅行肝右胆管-胆总管支架及左右支胆管骑跨外引流, 术后复查造影3例患者出现左叶胆管萎缩塌陷, 1例患者

左叶胆管扩张缓解不明显, 2 mo后复查胆红素没有继续降低, 考虑肝左支胆管-肝总管狭窄没有解除, 单纯左叶胆管外引流效果欠佳. 因此对于此类型表现患者, 如果左右支胆管狭窄并部分相通, 在评估患者介入耐受情况下应首选双支架置入.

单穿刺道双侧引流的优点在于患者损伤小, 术后护理方便, 但邹建伟等^[13]认为, 此种方法穿刺道经双重扩张, 容易引起胆汁外渗, 增加经引流管感染的机会, 并可能引起胆汁渗漏等严重并发症, 我们在术后护理中注意引流管的冲洗及穿刺点的换药, 并在拔除引流管后用不锈钢弹簧圈1-2枚封闭穿刺道. 本组14例患者采用本法, 无1例出现上述严重并发症, 可以认为右侧穿刺道双侧支架置入治疗方案疗效确切, 并发症少, 操作方便, 值得推广. 而双侧PTCD除增加操作难度及介入辐射量外, 也会增加出血、胆汁外溢、胆道感染等并发症的发生, 因此我们主张双侧PTCD术中一次性完成, 可尽早评估治疗效果, 而且为患者的后续治疗节省宝贵的时间.

3.3 患者疗效及预后相关因素分析 本组行单管引流及支架置入在左右肝管相通组与不通组中术后胆红素下降均明显, 但两组间没有统计学差异. 原则上双侧或多支引流及支架置入效果理想, 但部分患者因体质虚弱不能长时间耐受介入操作, 此时行单侧引流及支架置入, 临床症状缓解同样明显. 但单侧引流组与单侧引流并支架置入患者间存在显著差异($P<0.05$), 考虑支架重新建立胆肠间引流通道的可显著提高患者的黄疸缓解率, 并且单纯PTCD术行长期胆汁引流可导致水、电解质代谢紊乱, 增加胆道感染的概率^[14].

本组患者中单侧引流组与双侧引流组患者生存率经生存分析后无显著性差异(Log-rank检验 $P=0.602$), 因此可认为两种方法对患者生存期影响不大, 采用何种治疗方式并不能显著延长患者的生存期, 与文献报道一致^[15]. 生存期主要由原发疾病的病理类型及生物学特性所决定, 而与临床中采用何种方式减黄无关^[16].

因此, 对于Bismuth I型胆道梗阻, 由于左右胆管仍有互通, 故可选择单侧支架; 对于Bismuth II型, 造影时左右胆管仍有细线状交通, 应尽量应用双导丝行双侧引流, 可以在肝左右支胆管间搭桥引流, 但考虑到术后并发症及疗效, 双侧

应用要点

本文研究内容可以为恶性高位梗阻性黄疸的治疗提供依据, 可以明显改善部分患者特别是晚期恶性肿瘤导致的Bismuth III-IV型梗阻患者的预后, 为使更多相应患者纳入肿瘤介入的范畴提供了理论依据.

■同行评价

本文探讨了恶性高位梗阻性黄疸患者介入治疗效果及不同引流方式对疗效的影响,为临床治疗提供了一定的参考依据,具有一定的临床应用价值。

引流行双侧支架更为彻底;对于Bismuth III-IV型,则以两侧同时引流双支架置放甚至多支分别引流作为首选,结合患者的耐受情况如出现严重的胆心反射影响患者继续治疗及优势侧胆管所占比例,部分患者可以置放优势侧胆管单引流及支架置入,效果较理想,同样可以达到改善患者生存质量及顺利开展后续治疗的效果。

4 参考文献

- 1 章诺贝, 黄年根. 肝门部胆管癌Bismuth分型与经内镜胆道塑料支架引流术后并发症及退黄效果之间的关系. 世界华人消化杂志 2011; 19: 529-532
- 2 Bismuth H, Castaing D, Traynor O. Resection or palliation: priority of surgery in the treatment of hilar cancer. *World J Surg* 1988; 12: 39-47 [PMID: 2449769 DOI: 10.1007/BF01658484]
- 3 Cowling MG, Adam AN. Internal stenting in malignant biliary obstruction. *World J Surg* 2001; 25: 355-39; discussion 355-359 [PMID: 11343193]
- 4 Chahal P, Baron TH. Endoscopic palliation of cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 551-560 [PMID: 16891889 DOI: 10.1097/01.mog.0000239872.12081.a4]
- 5 詹茜, 沈柏用. 肝门胆管癌的治疗进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3313-3317
- 6 Coons H. Metallic stents for the treatment of biliary obstruction: a report of 100 cases. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1992; 15: 367-374 [PMID: 1335840 DOI: 10.1007/BF02734120]
- 7 钱晓军, 翟仁友, 戴定可, 于平. 恶性高位胆道黄疸介入治疗. 中国肿瘤临床 2002; 29: 66-67
- 8 Iwano H, Ryoza S, Ishigaki N, Taba K, Senyo M, Yoshida K, Sakaida I. Unilateral versus bilateral drainage using self-expandable metallic stent for unresectable hilar biliary obstruction. *Dig Endosc* 2011; 23: 43-48 [PMID: 21198916 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01036.x]
- 9 Inal M, Akgül E, Aksungur E, Seydaoglu G. Percutaneous placement of biliary metallic stents in patients with malignant hilar obstruction: unilobar versus bilobar drainage. *J Vasc Interv Radiol* 2003; 14: 1409-1416 [PMID: 14605106 DOI: 10.1097/01.RVI.0000096762.74047.A6]
- 10 Srinivas R, Puli, Matthew L, Bechtold, Jyotsna Bk Reddy, Mainor R. Antillon, David L. Carr-locke. unilateral vs bilateral metallic stents for malignant hilar obstruction: A meta-analysis and systematic review of risks. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: AB156 [DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.261]
- 11 Veal DR, Lee AY, Kerlan RK, Gordon RL, Fidelman N. Outcomes of metallic biliary stent insertion in patients with malignant bilobar obstruction. *J Vasc Interv Radiol* 2013; 24: 1003-1010 [PMID: 23796087 DOI: 10.1016/j.jvir.2013.03.020]
- 12 许林锋, 陈耀庭, 张靖, 陈斌, 崔斌, 杨志刚. T/Y型胆管支架治疗肝门部恶性梗阻性黄疸的临床应用价值. 临床放射学杂志 2007; 26: 911-913
- 13 邹建伟, 倪才方, 刘一之, 朱晓黎, 金泳海, 陈琰, 张栋, 孙鸽, 孙玲芳. 不同类型高位恶性胆道梗阻的介入治疗. 临床放射学杂志 2011; 30: 1523-1526
- 14 刘岩, 杨光, 于友涛, 刘瑞宝, 李任飞, 张同, 申宝忠. 经皮肝穿刺胆道支架置放结合动脉化疗栓塞治疗恶性梗阻性黄疸. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1495-1497
- 15 Tsai HM, Chuang CH, Lin XZ, Chen CY. Factors relating to the short term effectiveness of percutaneous biliary drainage for hilar cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5206-5210 [PMID: 19891021 DOI: 10.3748/wjg.15.5206]
- 16 林伟, 张春阳, 黄桂华, 周永财, 徐宪文, 赵艳红, 曾庆春, 张曦彤. 肝门部恶性梗阻性黄疸介入减黄术预后多因素分析. 中国普通外科杂志 2010; 19: 929-932

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



小肠细菌过度生长与小肠肿瘤的关系及其临床意义

刘 扬, 李 媛, 张东生, 张爱军, 许 琳

刘扬, 李媛, 张爱军, 许琳, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科 山东省青岛市 266071

张东生, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院肝胆外科 山东省青岛市 266071

刘扬, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化内科在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究.

作者贡献分布: 课题设计由许琳完成; 研究病例由刘扬、李媛、张东生、张爱军及许琳挑选获取; 所用仪器及所用试剂由张爱军与许琳提供; 操作过程由刘扬与李媛完成; 数据分析由刘扬完成; 本论文的写作由刘扬、李媛及许琳完成.

通讯作者: 许琳, 副主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院东区消化内科.

xulin1968@163.com

电话: 0532-88905629

收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-08-21

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-11-08

Significance of small intestinal bacterial overgrowth in small intestinal tumors

Yang Liu, Yuan Li, Dong-Sheng Zhang, Ai-Jun Zhang, Lin Xu

Yang Liu, Yuan Li, Ai-Jun Zhang, Lin Xu, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Dong-Sheng Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Lin Xu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. xulin1968@163.com

Received: 2013-06-25 Revised: 2013-08-21

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) and tumors of the small intestine and to observe the role of rifaximin in improving gastrointestinal symptoms in patients with small intestinal tumors and SIBO.

METHODS: Glucose hydrogen breath test (GHBT) was performed to evaluate the incidence rate of SIBO in 28 patients with small intestinal tumors and 30 healthy volunteers. Hydrogen

levels during GHBT and gastrointestinal symptom scores were recorded. All the patients were treated routinely, and patients with positive SIBO results were additionally given oral rifaximin (1200 mg/d for 5 d). GHBT was performed again after rifaximin treatment, and hydrogen levels and gastrointestinal symptom scores were recorded again.

RESULTS: There was a significant difference in the SIBO positive rate between patients with small intestinal tumors and healthy controls (57.14% vs 3.33%, $P < 0.05$). Gastrointestinal symptom scores were significantly higher in patients with small intestinal tumors than in healthy controls ($P < 0.05$). After treatment with rifaximin, hydrogen levels declined significantly ($P < 0.05$). There was a significant difference between pretreatment and post-treatment gastrointestinal symptom scores (10.72 ± 2.19 vs 8.83 ± 0.79 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Patients with small intestinal tumors are more likely to have SIBO than healthy individuals. SIBO may be a reason for aggravation of digestive tract symptoms in patients with small intestinal tumors. Appropriate application of rifaximin can improve gastrointestinal symptoms in patients with small intestinal tumors and SIBO.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Small intestinal bacterial overgrowth; Small intestinal tumors; Glucose hydrogen breath test; Rifaximin

Liu Y, Li Y, Zhang DS, Zhang AJ, Xu L. Significance of small intestinal bacterial overgrowth in small intestinal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3435-3439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3435.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3435>

摘要

目的: 研究小肠肿瘤患者小肠细菌过度生长 (small intestinal bacterial overgrowth, SIBO) 的

■背景资料

小肠肿瘤缺乏特异性的临床表现且诊断方法局限, 导致确诊时患者症状已较重, 严重影响了患者的生活质量. 近年来, 小肠肿瘤的发病率呈逐年上升的趋势, 因此我们通过研究小肠细菌过度生长 (small intestinal bacterial overgrowth, SIBO) 与小肠肿瘤的关系, 旨在了解两者有无相关性, 并期望通过治疗 SIBO 改善患者的消化系症状, 提高小肠肿瘤患者的生活质量.

■同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

■ 研发前沿

近年来,关于SIBO的研究越来越受到重视。国内外大量研究表明SIBO与消化系统疾病如肠易激综合征、功能性胃肠病、慢性肝病、急性重症胰腺炎等相关,并通过抗生素或益生菌制剂治疗SIBO可改善患者的消化系统症状。但是SIBO与小肠肿瘤的研究较少,而且目前缺乏系统治疗消化系统肿瘤患者的SIBO的资料。

发生情况及观察应用利福昔明治疗SIBO能否改善小肠肿瘤患者胃肠道症状。

方法:采用葡萄糖氢呼气试验(glucose hydrogen breath test, GHBT)检测小肠肿瘤组28例与健康对照组30例,并对所有患者行消化系症状评分, SIBO阳性患者在原有治疗的基础上给予利福昔明治疗,疗程结束后复查GHBT,观察并记录呼气氢浓度及消化系症状评分变化情况。

结果:小肠肿瘤组SIBO阳性率(57.14%)显著高于健康对照组(3.33%),差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤组SIBO阳性患者(7.50 ± 3.14)消化系症状积分高于SIBO阴性患者(4.00 ± 3.22),差异有统计学意义($P<0.05$)。SIBO阳性患者经利福昔明治疗后复查GHBT,呼气氢浓度和消化系症状积分较治疗前均下降,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

结论:小肠肿瘤患者较健康人更容易发生SIBO,且SIBO可能是加重患者消化系统症状的原因之一。应用利福昔明治疗SIBO后,患者消化系统症状改善,一定程度上提高了患者的生活质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 小肠细菌过度生长; 小肠肿瘤; 氢呼气试验; 利福昔明

核心提示: 小肠肿瘤患者较健康人更容易发生小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO),且SIBO可能是加重患者消化系统症状的原因之一。应用利福昔明治疗小肠肿瘤患者的SIBO,患者的消化系统症状有缓解,对改善患者预后有意义。

刘扬, 李媛, 张东生, 张爱军, 许琳. 小肠细菌过度生长与小肠肿瘤的关系及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3435-3439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3435.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3435>

0 引言

小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO)是由于肠道内菌群易位引起小肠菌群数量或菌群种类改变,达到一定程度而表现为营养吸收不良、腹泻和腹胀等症状的临床综合征^[1]。小肠肿瘤的发病率呈逐年上升的趋势^[2],多伴有腹胀、乏力、消瘦、乳糜泻、小肠吸收不良等症状,两者的临床症状有重叠,提示SIBO

可能与小肠肿瘤有关。本文通过研究SIBO与小肠肿瘤的关系,了解两者有无相关性,并期望通过治疗SIBO改善患者的消化系症状,提高肿瘤患者的生活质量。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-01/2012-12在青岛市市立医院东西两院消化内科、普外科、肝胆外科、肿瘤科的住院患者(所行检查经患者知情同意并签署知情同意书),经胃镜、结肠镜、小肠镜、全消化系钡餐等影像学及肿瘤标志物等辅助检查确诊为小肠肿瘤患者28例,男性20例,女性8例,年龄40-86岁,平均年龄 64.00 ± 11.71 岁。对照组30例,选自门诊及学校的健康人群,男性20例,女性10例,年龄25-62岁,平均年龄 42.10 ± 13.43 岁。所有研究对象应符合:(1)无糖尿病、甲状腺疾病、假性肠梗阻、肠易激综合征等引起胃肠动力不良的疾病,无乳糖不耐受。(2)近1 mo内未使用抗生素、抑酸药、益生菌制剂。(3)无使用激素、抗抑郁药、鸦片类药物史,无长期大量吸烟史。(4)近4 wk内未行结肠镜检查 and 灌肠治疗。(5)无肾功能不全史及其他部位的感染。

1.2 方法

1.2.1 氢呼气试验(hydrogen breath test, HBT): 所有入选对象均行葡萄糖氢呼气试验(深圳市中核海得威生物科技有限公司HHBT-01型)。(1)检查前1 d不服镇静安眠药,不吸烟,禁食面食、蔬菜、水果、豆制品、奶制品及其他富含纤维素类食物。(2)检查前1 d晚餐以大米为主食,肉蛋类为副食,避免过饱。(3)晚餐后20:00起禁饮食,空腹时间达12 h以上,以保证第2天早晨空腹呼气氢值较低。(4)试验前1 d禁烟,整个试验过程均不得吸烟,试验场所也必需禁烟。检测期间禁饮食,受试者不剧烈运动、不打盹,取坐位,试验前仔细刷牙。(5)实验方法:受试者口含一次性吹气管慢慢呼气,时间尽可能长,流量控制在250 mL/min,吹完一口气后换气再吹,直到LCD显示屏上数字不再上升为止,约需70 s。先测定基础值(FBH),用50-80 g葡萄糖+200-250 mL温开水做试餐底物(试餐后漱口,以减少口腔细菌对实验的影响),试餐后每20 min测一次呼气氢浓度,共2 h。

1.2.2 SIBO诊断标准: 试餐后氢呼气浓度上升超过12 ppm提示为小肠细菌过度生长(SIBO)阳性,反之为阴性。

1.2.3 治疗: 给予SIBO阳性患者连续5 d利福昔明

表 1 症状及疗效积分问卷调查表

症状	1分	2分	3分
腹泻	水样便或糊状便<3次/d	水样便或糊状便, 3-4次/d	水样便或脓血便, >6次/d
便秘	大便前端干燥, 2 d 1次, 排便费力	干燥, 2-3 d 1次, 排便费力	羊粪状, >3 d 1次, 排便困难
腹胀	自觉无腹胀, 经他人提醒后感腹胀	腹胀呈间断性, 不影响进食	腹胀明显, 呈持续性, 影响进食
腹痛	偶发腹痛, 基本不影响休息	阵发性腹痛, 影响休息	持续腹痛, 影响休息和正常生活
纳差	进食较前减少<1/3	进食较前减少1/3-2/3	不思饮食, 食量较前减少2/3以上
发热	体温基本正常	间断发热, 2-3次/7 d	持续低热

表 2 GHBT检测结果比较 (mean ± SD, ppm)

时间	基础值	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	P值	t值
治疗组									
肿瘤组	6.75 ± 3.98	17.64 ± 11.84	23.25 ± 23.32	27.82 ± 29.56	30.50 ± 39.01	27.21 ± 37.79	24.43 ± 31.15	<0.05	5.360
对照组	6.37 ± 4.04	9.40 ± 6.83	6.30 ± 6.62	5.77 ± 5.60	4.17 ± 4.49	4.23 ± 4.28	3.57 ± 3.53		
SIBO阳性									
治疗前	8.19 ± 4.12	24.38 ± 10.54	34.38 ± 24.57	43.31 ± 31.07	48.31 ± 44.04	42.69 ± 44.34	38.25 ± 35.53	<0.05	3.070
治疗后	6.38 ± 3.46	17.31 ± 7.19	21.38 ± 20.35	21.00 ± 18.23	20.19 ± 19.93	17.81 ± 15.46	15.69 ± 12.98		

GHBT: 葡萄糖氢呼气试验; SIBO: 小肠细菌过度生长。

治疗, 1200 mg/d, 疗程结束后复查葡萄糖氢呼气试验(glucose hydrogen breath test, GHBT), 观察呼气氢浓度及消化系症状积分变化情况, 并分析患者症状是否得到改善。

1.2.4 症状积分: 以腹泻、便秘、腹胀、腹痛、纳差、发热等症状按严重程度和发作频率计分, 各项目分数的总和即为症状积分(表1)。

1.2.5 疗效判定标准: (1)显效: 症状积分下降≥75%; (2)有效: 75%>症状积分下降≥50%; (3)进步: 50%>症状积分下降≥25%; (4)无效: 症状积分下降<25%。

统计学处理 应用SPSS19.0软件对结果进行统计学分析, 实验结果以mean±SD表示, 定性资料采用 χ^2 检验, 定量资料采用两样本均数比较的t检验, 检测正态性和方差齐性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠肿瘤组与健康对照组比较 28例小肠肿瘤患者中, 16例为SIBO阳性, 健康对照组中, 1例为SIBO阳性, 肿瘤患者SIBO阳性率(57.14%, 16/28)显著高于健康对照组(3.33%, 1/30), 差异

有统计学意义($P<0.05$, $\chi^2 = 20.22$)。两组呼气氢浓度均数比较, 肿瘤组高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$, $t = 5.360$, 表2)。SIBO阳性患者消化系症状积分(7.50±3.14)较阴性患者(4.00±3.22)高, 差异有统计学意义($P<0.05$, $t = 2.887$)。

2.2 SIBO阳性患者应用利福昔明疗效 16例SIBO阳性小肠肿瘤患者均接受利福昔明治疗, 疗程结束后复查GHBT, 呼气氢浓度治疗前后均有不同程度的下降, 差异有统计学意义($P<0.05$, $t = 3.070$, 表2), 消化系症状积分应用利福昔明后(4.00±2.61)较治疗前(7.50±3.14)有所下降, 差异有统计学意义($P<0.05$, $t = 3.535$), 其中25.00%(4/16)为显效, 25.00%(4/16)有效, 6.25%(1/16)进步, 43.75%(7/16)无效, 有效率为56.25%。对照组有1例SIBO阳性, 因无不适, 未予处理。

3 讨论

近年来, 小肠肿瘤的发病率成逐年上升的趋势, 但因其缺乏特异性的临床表现, 且诊断方法局限, 导致确诊时患者症状已较重, 严重影响了患者的生活质量^[3]。研究表明, SIBO与消化

■相关报道

Ivan等通过治疗SIBO成功改善了1例合并SIBO的胰腺癌患者的腹泻症状。王为等对168例食管癌、胃癌、肝癌患者进行研究, 发现其SIBO阳性率分别为47.1% (16/34)、49.4% (41/83)、76.5% (39/51)。均提示消化系肿瘤患者容易发生SIBO。

■创新盘点

本文提供了小肠肿瘤SIBO的发生情况,并应用在肠道以原形排泄的利福昔明治疗小肠肿瘤患者的SIBO,为评估其疗效以及改善患者生活质量提供理论依据;关于PPI与SIBO相关性的研究结论并不一致,我们选择近1 mo来未使用PPI制剂的患者,排除了PPI可能对SIBO结果的影响。

系统疾病如肠易激综合征、慢性肝病、肝硬化、急性重症胰腺炎等相关,并通过抗生素或益生菌制剂治疗SIBO可改善患者的消化系症状^[4-7]。Bustillo等^[8]通过治疗SIBO成功改善了1例合并SIBO的胰腺癌患者的腹泻症状。王为等^[9]对168例食管癌、胃癌、肝癌患者进行研究,发现其SIBO阳性率分别为47.1%(16/34)、49.4%(41/83)、76.5%(39/51)。均提示消化系肿瘤患者容易发生SIBO。结合小肠肿瘤的临床症状及相关特点,我们考虑小肠肿瘤患者可能存在SIBO。

正常情况下,小肠处于一种相对无菌的状态。当机体处于免疫力低下、小肠淤积、肠道细菌易位等状态时,可引起SIBO^[10-12]。而小肠肿瘤患者常常存在免疫力低下,防御机制受损,可使肠黏膜屏障受到破坏,导致菌群失调;肿瘤表面糜烂、溃疡、坏死可引起消化系出血,细菌滋生,加重感染;肠粘连、肠梗阻等并发症的发生,可引起小肠淤滞,导致动力异常,使细菌在小肠停留时间过长。以上因素均可导致SIBO。本研究结果也显示,小肠肿瘤组SIBO阳性率明显高于健康对照组。因而,小肠肿瘤患者较健康人容易发生SIBO。

SIBO可以通过各种因素作用于肠道加重患者的消化系症状。研究表明,过度生长的细菌可同宿主争夺膳食中的维生素B₁₂、干扰胆盐的代谢、影响氨基酸的吸收,引起患者维生素B₁₂缺乏、腹泻、低蛋白血症^[13,14]。小肠细菌过度繁殖可使黏附到肠壁的细菌增多,产生大量代谢产物和毒素,破坏肠黏膜结构。细菌可通过其发酵的终末产物和细菌内物质释放一系列信号影响肠道神经内分泌及免疫系统释放介质,进而影响肠道的感觉和运动功能^[15];发酵底物产生的过量气体(氢气、甲烷、二氧化碳等)可以加重患者腹部胀痛症状^[16]。本研究结果表明,SIBO阳性的小肠肿瘤患者消化系症状积分较阴性者高,说明SIBO与消化系症状有关,且考虑小肠肿瘤患者SIBO阳性率与患者疾病严重程度有关。本研究应用利福昔明治疗小肠肿瘤患者的SIBO,观察治疗前后患者症状的变化。利福昔明为利福霉素衍生物,不被肠道吸收,在肠道以原形排泄,患者不良反应小^[17]。经利福昔明治疗后,呼气氢浓度及症状积分均有所下降,且对56.25%的患者有效,进一步说明SIBO与消化系症状相关。治疗SIBO后患者症状有一定程度的改善,对小肠肿瘤患者生活质量的提高有意义。

小肠肿瘤患者由于肿瘤本身的消耗及其他各种因素容易发生SIBO,而SIBO又可通过造成营养不良、内毒素血症等反过来加重肿瘤患者的症状,形成恶性循环。本研究通过对小肠肿瘤患者进行GHBT检查,发现其与SIBO有相关性,治疗后可在一定程度上缓解消化系症状,提高患者小肠对营养物质的吸收,防止可能由肠道细菌引起的严重感染及并发症,提高肿瘤患者的生活质量。但本研究样本量少,并且没有长期的追踪随访调查,对治疗后SIBO复发情况没有进一步的研究,有待于更深入的探讨。

4 参考文献

- 1 陶琳,柯美云,王智凤. 小肠细菌过度生长与功能性胃肠疾病的关系. 中国中西医结合消化杂志 2005; 13: 122-123
- 2 俞利结,李淑德,傅传刚,李兆申. 小肠恶性肿瘤625例临床特征分析. 肿瘤 2012; 32: 811-818
- 3 陈灏珠,林果为. 原发性小肠肿瘤. 第13版. 复旦大学上海医学院, 2011: 2021-2023
- 4 许琳,王青,姜相君,张爱军,元玉琴. 肠易激综合征与小肠细菌过度生长关系的研究. 中华消化杂志 2007; 27: 704-705
- 5 Bauer TM, Schwacha H, Steinbrückner B, Brinkmann FE, Ditzgen AK, Aponte JJ, Pelz K, Berger D, Kist M, Blum HE. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2364-2370 [PMID: 12358257]
- 6 刘伟,蒋义斌,钟良,戎兰,孙大裕. 慢性肝病小肠细菌过度生长与内毒素血症. 中华消化杂志 2005; 25: 398-400
- 7 Sánchez E, Casafont F, Guerra A, de Benito I, Pons-Romero F. Role of intestinal bacterial overgrowth and intestinal motility in bacterial translocation in experimental cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97: 805-814 [PMID: 16438624]
- 8 Bustillo I, Larson H, Saif MW. Small intestine bacterial overgrowth: an underdiagnosed cause of diarrhea in patients with pancreatic cancer. *JOP* 2009; 10: 576-578 [PMID: 19734643]
- 9 王为,刘峰,徐爱蕾,颜君,蔡娜,葛研芹. 三种消化道肿瘤小肠细菌过度生长情况的研究. 医学综述 2011; 17: 946-947
- 10 陈实,练海燕. 小肠细菌过度生长的诊断方法评价. 国际消化病杂志 2009; 29: 125-128
- 11 Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, Vorisek V, Kopacova M. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2978-2990 [PMID: 20572300]
- 12 杨丽丽,金建军. 小肠细菌过度生长与消化系统疾病关系的研究进展. 河南科技大学学报(医学版) 2007; 25: 314-316
- 13 Fan X, Sellin JH. Review article: Small intestinal bacterial overgrowth, bile acid malabsorption and gluten intolerance as possible causes of chronic watery diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1069-1077 [PMID: 19222407]
- 14 李方儒. 小肠细菌过度繁殖所致吸收不良. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1420-1422
- 15 Husebye E, Hellström PM, Sundler F, Chen J, Midt-

- vedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G368-G380 [PMID: 11171619]
- 16 Passos MC, Serra J, Azpiroz F, Tremolaterra F,

- Malagelada JR. Impaired reflex control of intestinal gas transit in patients with abdominal bloating. *Gut* 2005; 54: 344-348 [PMID: 15710981]
- 17 胡乐义, 王巧民. 利福昔明治疗肠易激综合征的研究进展. *国际消化病杂志* 2011; 31: 82-85

■同行评价

本文的研究内容对临床工作有一定指导意义, 切入点较新, 相关研究步骤论述清晰。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

差异化分阶段护理管理对SCI患者神经源性肠功能障碍的临床效果

车春, 王慧, 许海霞

■背景资料

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)在临床上较为常见,患者经救治后能够存活,但多严重致残而丧失部分活动或生活自理能力。SCI后的神经源性肠功能障碍(neurogenic bowel dysfunction, NBD)主要是指患者肠道功能紊乱和排便功能障碍。临床研究表明,NBD给患者带来的痛苦基本与失去运动能力所带来的痛苦相当,而且该症状也会伴随患者一生,并不断发展,给患者的生存质量造成较大影响,也给家庭带来沉重的负担。西方发达国家在个体化分阶段护理管理上已经取得了较大的研究进展,临床实践效果也十分显著。

■同行评议者

许文燮,教授,上海交通大学基础医学院,病理、生理与病理生理学

车春,王慧,许海霞,海南省海口市人民医院 海南省海口市 570208

车春,主管护师,主要从事临床内科护理工作。

作者贡献分布:此课题由王慧与车春设计;研究过程由车春实施完成;数据分析由许海霞完成;本论文由车春与王慧共同完成。

通讯作者:王慧,主管护师,570208,海口市海甸岛人民大道43号,海口市人民医院内科。chechunhn@163.com

收稿日期:2013-07-22 修回日期:2013-09-25

接受日期:2013-10-20 在线出版日期:2013-11-08

Clinical effect of individualized staged holistic nursing in spinal cord injury patients with neurogenic bowel dysfunction

Chun Che, Hui Wang, Hai-Xia Xu

Chun Che, Hui Wang, Hai-Xia Xu, Haikou People's Hospital, Haikou 570208, Hainan Province, China

Correspondence to: Chun Che, Senior Nurse, Haikou people's Hospital, Internal Medicine, 43 Renmin Dadao, Haikou 570208, Hainan Province, China. chechunhn@163.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-25

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of individualized staged holistic nursing in spinal cord injury (SCI) patients with neurogenic bowel dysfunction.

METHODS: Eighty SCI patients with neurogenic bowel dysfunction were randomly divided into either an experimental or a control group. The control group was given routine nursing care, while the experimental group was given individualized staged holistic nursing. Bowel function and the quality of life were compared between the two groups in different stages, including before treatment, acute phase, rehabilitation phase, and follow-up phase.

RESULTS: In different stages, the bowel function was improved in varying degrees in the two groups. The improvement was more significant in the experimental group than in the control

group in the acute phase, rehabilitation phase, and follow-up phase (all $P < 0.05$). In the follow-up phase, the bowel function had a downward trend in the control group. The scores of quality of life were improved in varying degrees in the two groups; however, in the acute phase and rehabilitation phase, the experimental group was significantly better than the control group in terms of total score of life quality and scores for each of the domains of physiology, psychology, and environment (all $P < 0.05$), although there was no significant difference in the score for the social domain ($P > 0.05$). In the follow-up phase, the experimental group was significantly better than the control group with regard to total score of life quality and scores for each of the domains of physiology, psychology, society, and environment (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Individualized staged holistic nursing can help improve bowel function and quality of life in SCI patients with neurogenic bowel dysfunction.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Individualized staged holistic nursing; Spinal cord injury; Neurogenic bowel dysfunction

Che C, Wang H, Xu HX. Clinical effect of individualized staged holistic nursing in spinal cord injury patients with neurogenic bowel dysfunction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3440-3444 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3440>

摘要

目的: 探讨差异化(个体化)分阶段护理管理对脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)患者神经源性肠功能障碍的临床效果。

方法: 随机将我院收治的80例脊髓损伤后神经源性肠功能障碍(neurogenic bowel dysfunction, NBD)的患者分为实验组和对照

组, 对照组患者采取常规护理措施, 实验组患者采取个体化分阶段护理管理, 比较两组患者治疗前、急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标和生存质量评分情况。

结果: 两组患者各阶段肠功能均有不同程度改善, 但实验组患者在急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标均明显优于对照组, 差异具有显著性($P<0.05$); 对照组患者随访期肠功能有下降趋势; 两组患者各阶段生存质量评分均有不同程度改善, 在急性期及住院康复期实验组患者生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分及环境领域得分均明显优于对照组, 差异具有显著性($P<0.05$), 但两组患者社会领域得分差异无统计学意义($P>0.05$); 出院随访期实验组生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分、社会领域得分及环境领域得分均明显优于对照组, 差异具有显著性($P<0.05$)。

结论: 个体化分阶段护理管理能够明显改善患者肠道功能和生存质量, 预后效果良好, 患者满意度高, 临床应用和推广价值较高。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 个体化分阶段护理管理; 脊髓损伤; 神经源性肠功能障碍

核心提示: 本组研究表明, 两组患者各阶段肠功能均有不同程度改善, 但实验组患者在急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标均明显优于对照组, 差异具有显著性; 对照组患者随访期肠功能有下降趋势。

车春, 王慧, 许海霞. 差异化分阶段护理管理对SCI患者神经源性肠功能障碍的临床效果. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3440-3444 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3440>

0 引言

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)在临床上较为常见, 患者经救治后能够存活, 但多严重致残而丧失部分活动或生活自理能力。SCI后的神经源性肠功能障碍(neurogenic bowel dysfunction, NBD)主要是指患者肠道功能紊乱和排便功能障碍。临床研究表明, NBD给患者带来的痛苦基本与失去运动能力所带来的痛苦相当, 而且该症状也会伴随患者一生, 并不断发展, 给患者的生存质量造成较大影响, 也给家庭带来沉重的负

表 1 两组患者临床资料比较 [$n=40, n(\%)$]

项目	对照组	实验组
性别		
男	30(75.0)	29(72.5)
女	10(25.0)	11(27.5)
平均年龄(岁)	40.06 ± 3.97	38.98 ± 4.41
损伤水平		
截瘫	22(55.0)	23(57.5)
四肢瘫	18(45.0)	17(42.5)
瘫痪程度(ASIA评分)		
A	9(22.5)	5(12.5)
B	4(10.0)	8(20.0)
C	17(42.5)	18(45.0)
D	10(25.0)	9(22.5)

担^[1]。西方发达国家在个体化分阶段护理管理上已经取得了较大的研究进展, 临床实践效果也十分显著。我院在英国MCSI(Midlands Center for Spinal Injuries)的指导和支持下拟定个体化分阶段护理管理方案, 已经取得了良好的临床效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-02/2012-10我院收治的80例脊髓损伤患者。所有患者入院后即接受脊柱稳定椎管减压术治疗, 病情得到控制。均按照美国SCI协会的SCI神经学分类标准诊断为SCIA-D级且均伴有神经源性肠功能障碍^[2], 经临床影像学检查确诊。所有患者均排除SCI导致的严重心脏、肝脏及肾脏等严重脏器功能障碍需医疗维持生命或伴有其他慢性肠道疾病者^[3]。随机将80例患者分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、损伤水平、瘫痪程度及病情等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。两组患者均在研究前签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者采取常规护理措施, 包括常规大便失禁清洁护理、便秘护理、用药护理、腹胀对症护理、饮食指导及出院健康指导等; 实验组患者采取个体化分阶段护理管理, 在英国MCSI的指导和支持下拟定护理管理方案, 根据患者的病理生理特点于急性期(伤后4 wk内)、住院康复期(伤后5-8 wk内)和随访期(出院后3-6 mo)对患者实施连续护理管理^[4]。整个个体化分阶段护理管理过程中根据不同患者不同的神经平面、不同损伤程度、不同肠功能障碍及

■ 相关报道

Faaborg等指出SCI治疗中康复治疗的重要性不低于手术治疗, 术后不能够及时开展有效康复治疗, 手术治疗的大部分作用就会失去意义。

■应用要点

个体化分阶段护理管理能够明显改善患者肠道功能和生存质量,预后效果良好,患者满意度高,临床应用以及推广价值较高。

表 2 两组患者治疗前后肠功能各项指标比较 [$n = 40, n(\%)$]

项目	对照组	实验组	统计量	P值
治疗前				
腹胀	39(97.50)	39(97.50)	0.452	0.501
便秘	38(95.00)	37(92.50)	0.204	0.650
药物依赖	39(97.50)	39(97.50)	0.452	0.501
排便时间(min)	25.67 ± 7.43	24.72 ± 5.13	1.187	0.247
Wexner评分(分)	17.98 ± 0.33	18.93 ± 0.21	1.554	0.131
急性期				
腹胀	18(45.00)	7(17.50)	5.339	0.021
便秘	16(40.00)	5(12.50)	5.794	0.015
药物依赖	20(50.00)	8(20.00)	6.086	0.014
排便时间(min)	20.89 ± 6.11	9.33 ± 3.01	9.589	<0.001
Wexner评分(分)	16.09 ± 0.50	12.31 ± 0.49	9.444	<0.001
住院康复期				
腹胀	23(57.50)	8(20.00)	8.575	0.003
便秘	21(52.50)	7(17.50)	8.989	0.003
药物依赖	24(60.00)	9(22.50)	8.261	0.004
排便时间(min)	22.11 ± 5.61	12.69 ± 3.48	7.795	<0.001
Wexner评分(分)	14.09 ± 0.59	9.41 ± 1.12	18.491	<0.001
出院随访期				
腹胀	30(75.00)	18(45.00)	5.238	0.022
便秘	29(72.50)	16(40.00)	5.179	0.023
药物依赖	31(77.50)	19(47.50)	2.349	0.021
排便时间(min)	24.59 ± 7.61	15.19 ± 3.58	6.284	<0.001
Wexner评分(分)	12.03 ± 0.41	6.61 ± 1.69	23.873	<0.001

不同瘫痪程度充分满足患者的个体化护理需求,实现个体化、人性化护理。

1.2.2 观察指标: 比较两组患者治疗前、急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标(腹胀、便秘、大便失禁、每次排便耗时及药物依赖性)^[5,6]和生存质量评分情况^[7]。

统计学处理 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 差异性比较采用 t 检验, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠功能 两组患者各阶段肠功能均有不同程度改善, 但实验组患者在急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标均明显优于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$); 对照组患者随访期肠功能有下降趋势(表2)。

2.2 生存质量 两组患者各阶段生存质量评分均有不同程度改善。在急性期及住院康复期实验组患者生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分及环境领域得分均明显优于对照组, 差

异具有显著性($P < 0.05$), 但两组患者社会领域得分差异无统计学意义($P > 0.05$); 出院随访期实验组生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分、社会领域得分及环境领域得分均明显优于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

对SCI后NBD患者实施个体化分阶段护理管理的目的在于帮助患者在合理的时间内排空肠道, 同时将该过程中物理或药物干预大幅度降低, 实现患者排便的可预测性和规律性, 预防腹胀、便秘、大便失禁及其他肠道并发症发生, 改善患者的生存质量, 减轻家庭负担, 让患者能够尽快走出家庭融入社会。在这方面是与国外的其他临床研究观念是一致的^[8]。

本研究中患者入院检查后即开始拟定个体化分阶段护理管理方案并在第一时间开始实施。Faaborg等^[9]指出SCI治疗中康复治疗的重要性不低于手术治疗, 术后不能够及时开展有效康复治疗, 手术治疗的大部分作用就会失去意义。岳雨珊等^[10]的研究表明SCI患者受伤至康复治疗

表 3 两组患者治疗前后生存质量评分比较 (mean \pm SD, $n = 40$)

项目	对照组	实验组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗前				
总分	39.88 \pm 11.08	38.76 \pm 8.62	0.477	0.633
生理领域	9.01 \pm 1.63	8.66 \pm 1.61	0.900	0.371
心理领域	12.98 \pm 2.09	13.55 \pm 2.07	1.079	0.283
社会领域	13.46 \pm 2.13	12.88 \pm 2.08	1.360	0.179
环境领域	11.11 \pm 1.80	10.39 \pm 1.51	1.901	0.062
急性期				
总分	52.86 \pm 14.42	66.73 \pm 12.20	4.068	< 0.001
生理领域	13.48 \pm 2.17	16.35 \pm 3.88	3.544	0.001
心理领域	9.18 \pm 1.13	10.63 \pm 1.97	3.522	0.001
社会领域	12.97 \pm 1.88	13.09 \pm 2.09	0.235	0.814
环境领域	14.64 \pm 2.45	17.38 \pm 2.96	3.993	< 0.001
住院康复期				
总分	48.06 \pm 12.23	60.60 \pm 11.09	4.214	< 0.001
生理领域	12.75 \pm 2.32	13.99 \pm 2.82	2.946	0.004
心理领域	11.04 \pm 1.55	12.06 \pm 2.00	2.240	0.029
社会领域	12.59 \pm 1.98	13.54 \pm 2.33	1.707	0.092
环境领域	13.72 \pm 2.12	15.91 \pm 6.62	4.279	< 0.001
出院随访期				
总分	41.77 \pm 10.02	52.93 \pm 10.57	6.325	< 0.001
生理领域	8.92 \pm 1.23	12.24 \pm 2.02	12.571	< 0.001
心理领域	12.07 \pm 1.90	15.53 \pm 2.61	7.855	< 0.001
社会领域	12.27 \pm 1.66	15.78 \pm 2.75	6.883	< 0.001
环境领域	10.50 \pm 1.62	13.81 \pm 2.03	7.731	< 0.001

■同行评价

本文设计合理, 对临床医师及护士有一定参考意义。

疗实施时间越短, 术后功能恢复情况越好、院时间越短、治疗花费越低、并发症越少。因此, 我院将个体化分阶段护理管理的开始实施时间严格控制在患者入院后24 h内。SCI后NBD患者具有典型自认恢复规律, 我院参照英国MCSI的护理阶段划分标准将患者康复治疗阶段分为急性期(伤后4 wk内)、住院康复期(伤后5-8 wk内)和随访期(出院后3-6 mo)^[11], 分别实施不同的个体化肠道护理管理干预, 取得了良好的临床效果。本组研究表明, 两组患者各阶段肠功能均有不同程度改善, 但实验组患者在急性期、住院康复期及出院随访期肠功能各项指标均明显优于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$); 对照组患者随访期肠功能有下降趋势。

SCI后NBD患者排便障碍主要表现为便秘, 约一半的患者会出现腹胀等不适, 部分患者出现腹痛及排便时头痛、出汗等症状^[12]。因此, 患者独立排便能力降低, 一半需要药物进行辅助。本研究中入院时两组患者均出现不同程度的腹胀、便秘以及大小便失禁、大便时间长等症状, 发生率与相关文献报道基本一致^[13]。实验组患者

于急性期开始实施针对性肠道护理干预, 避免了患者肠功能障碍进一步恶化, 有效预防了肠道并发症的发生, 逐步改善了患者整体肠道状况。而随访期对照组患者肠功能出现下降趋势, 主要是由于常规护理干预能够在住院期间满足患者的各项基本需求, 但尚未建立完善的随访和社区护理干预机制, 导致患者出院后康复治疗无法开展或者仅能够依靠家属实施家庭护理, 患者肠道功能护理干预基本处于缺失状态, 导致肠道功能出现下降趋势^[14]。

我国目前医疗技术水平发展迅速, SCI患者的生存率大大提高, 但多数患者由于伴随终身残疾, 不仅生理机能受损, 也造成了心理、社会、环境等多方面的不利因素影响患者的生存质量^[15]。本研究中患者平均年龄在40岁左右, 正处于事业上升期, 也是家庭的经济和生活支柱。SCI后身体和心理受到双重打击, 社会的不认可、给家庭带来的沉重负担以及残疾后的绝望都使得患者处于极端压抑的自我封闭状态, 需要采取有效的护理干预帮助他们走出阴影, 重新面对生活^[16]。本研究中两组患者各阶段生存

质量评分均有不同程度改善。在急性期及住院康复期实验组患者生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分及环境领域得分均明显优于对照组,差异具有显著性($P<0.05$);出院随访期实验组生存质量总分、生理领域得分、心理领域得分、社会领域得分及环境领域得分均明显优于对照组,差异具有显著性($P<0.05$),但两组患者社会领域得分差异无统计学意义而在急性期和住院康复期实验组患者社会领域得分与对照组无明显差异($P>0.05$)。表明住院期间个体化分阶段护理管理对患者社会领域改善不明显。分析原因主要为患者住院期间并未参与社会活动,因此改善不能够有所体现。

总之,个体化分阶段护理管理能够明显改善患者肠道功能和生存质量,预后效果良好,患者满意度高,临床应用和推广价值较高。

4 参考文献

- 1 朱春燕, 刘化侠. 整体康复护理对急性期脊髓损伤病人神经源性肠功能障碍的影响. 护理研究 2012; 26: 3136-3138
- 2 李建军, 周红俊, 孙迎春. 脊髓损伤神经学分类国际标准(2006年修订). 中国康复理论与实践 2007; 13: 01-06
- 3 Liu CW, Huang CC, Chen CH, Yang YH, Chen TW, Huang MH. Prediction of severe neurogenic bowel dysfunction in persons with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2010; 48: 554-559 [PMID: 20065986 DOI: 10.1038/sc.2009.181]
- 4 李静. 脊髓损伤患者神经源性肠道阶段化整体管理模式的建立及效果评价. 中国当代医药 2012; 19: 05-07
- 5 徐青, 高飞, 王磊, 岳军忠, 刘文国, 张锋良, 龙志华, 余微波, 李建军. 脊髓损伤后肠道功能障碍—美国临床实践指南解读. 中国康复理论与实践 2010; 16: 83-86
- 6 郑樱, 周红俊, 李建军, 刘根林, 郝春霞, 张纓, 王一吉, 康海琼, 卫波. 国际脊髓损伤功能基础数据集. 中国康复理论与实践 2010; 16: 208-211
- 7 郝元涛, 方积乾. 世界卫生组织生存质量测定量表中文版介绍及其使用说明. 现代康复 2004; 4: 1127-1129, 1145
- 8 Kajbafzadeh AM, Sharifi-Rad L, Nejat F, Kajbafzadeh M, Talaei HR. Transcutaneous interferential electrical stimulation for management of neurogenic bowel dysfunction in children with myelomeningocele. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 453-458 [PMID: 22065105 DOI: 10.1007/s00384-011-1328-z]
- 9 Faaborg PM, Christensen P, Finnerup N, Laurberg S, Krogh K. The pattern of colorectal dysfunction changes with time since spinal cord injury. *Spinal Cord* 2008; 46: 234-238 [PMID: 17893697]
- 10 岳雨珊, 程洁, 张文毅, 朱毅. 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍. 世界华人消化杂志 2013; 21: 633-640
- 11 朱黎婷, 朱毅, 张文毅, 俞君, 谢斌. 中医药在脊髓损伤神经源性肠道功能障碍的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3549-3557
- 12 Qiu J. China Spinal Cord Injury Network: changes from within. *Lancet Neurol* 2009; 8: 606-607 [PMID: 19539234 DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70162-0.]
- 13 Krogh K, Christensen P. Neurogenic colorectal and pelvic floor dysfunction. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 531-543 [PMID: 19647688 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.04.012]
- 14 徐明春. 不完全脊髓损伤致神经源性肠道功能紊乱的康复护理. 吉林医学 2010; 30: 3169-3170
- 15 Martellucci J, Naldini G, Carriero A. Sacral nerve modulation in the treatment of chronic pelvic pain. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 921-926 [PMID: 22203519 DOI: 10.1007/s00384-011-1394-2.]
- 16 刘根林, 周红俊, 李建军, 郑樱, 郝春霞, 康海琼, 张纓, 王一吉, 卫波. 脊髓损伤的诊断与康复. 中国康复理论与实践 2008; 14: 610

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中药疏肝健脾止痢方治疗溃疡性结肠炎患者的临床作用

黄英姿, 张 丽

黄英姿, 贵州省六盘水市水矿集团总医院中医科 贵州省六盘水市 553000

张丽, 贵州省六盘水市水矿集团公司康宁大众医药有限责任公司 贵州省六盘水市 553000

黄英姿, 副主任医师, 主要从事中医方面的研究。

作者贡献分布: 此论文由黄英姿设计; 研究过程由黄英姿实施完成; 数据分析及病理支持由张丽完成; 本论文写作由黄英姿与张丽共同完成。

通讯作者: 黄英姿, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区水西路龙塘街17号, 贵州省六盘水市水城矿业集团总医院中医科. huangyingzi_gz@163.com

电话: 0858-8179541

收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-10-14

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-08

Effects of traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid in treatment of ulcerative colitis

Ying-Zi Huang, Li Zhang

Ying-Zi Huang, Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of Water Mining Group, Liupanshui City, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Li Zhang, Liupanshui City, Kangning Dazhong Pharmaceutical Company, Water Mining Group, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ying-Zi Huang, Associate Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of Water Mining Group, Liupanshui City, 17 Longtang Street, Shuixi Road, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. huangyingzi_gz@163.com

Received: 2013-09-02 Revised: 2013-10-14

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To evaluate the effects of traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid in the treatment of ulcerative colitis.

METHODS: One hundred and forty patients with ulcerative colitis were randomly divided into either an experimental group or a control group. Both groups were given routine nutritional support, local enema and diet therapy. The treatment group was additionally treated by traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid, and the control group was

treated with 5-aminosalicylic acid alone. Clinical efficacy, clinical symptoms, and the changes in levels of cytokine tumor necrosis factor- α , (TNF- α) were compared between the two groups.

RESULTS: The effective rate (52.86% vs 32.86%) and overall response rate (94.29% vs 71.43%) were significantly higher in the treatment group than in the control group (both $P < 0.05$). The stool times (0.75 ± 0.31 vs 3.78 ± 1.89 , 1.96 ± 0.88 vs 3.79 ± 1.76), thin stools (1.31 ± 0.19 vs 3.97 ± 0.71 , 2.32 ± 1.09 vs 3.87 ± 1.79), mucous bloody stools (1.49 ± 0.60 vs 3.16 ± 1.42 , 2.36 ± 0.22 vs 3.18 ± 1.66), and abdominal pain (1.33 ± 0.69 vs 3.21 ± 0.85 , 2.19 ± 0.78 vs 3.12 ± 1.30) were significantly improved after treatment (all $P < 0.05$ or < 0.01). The curative effect was significantly better in the treatment group than in the control group (0.75 ± 0.31 vs 1.96 ± 0.88 , 1.31 ± 0.19 vs 2.32 ± 1.09 ; 1.49 ± 0.60 vs 2.36 ± 0.22 , 1.33 ± 0.69 vs 2.19 ± 0.78 ; all $P < 0.05$). The level of TNF- α was significantly lower in the treatment group than in the control group (15.37 ng/L ± 4.56 ng/L vs 23.35 ng/L ± 3.37 ng/L, $P < 0.05$). During a 3-month follow-up period, nine patients in the control group developed diarrhea, while no any adverse reaction occurred in the treatment group. There were no recurrences for the two groups.

CONCLUSION: Traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid is effective and safe in the treatment of ulcerative colitis and can reduce the level of TNF- α .

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Traditional Chinese medicine; 5-Aminosalicylic acid; Ulcerative colitis

Huang YZ, Zhang L. Effects of traditional Chinese medicine combined with 5-aminosalicylic acid in treatment of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3445-3449 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3445.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3445>

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 发病机制国内外尚无明确定论, 是世界临床医学界公认的疑难病症, 患者一般病程较长且病情顽固, 治疗后容易复发。同时由于患者长期处于心理压抑状态, 为治疗带来较大不利影响。

■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

■相关报道

临床研究表明,慢性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病原因主要包括感染、过敏、心理、免疫以及遗传因素。Molodecky等反复粪检未发现细菌或病毒感染,使用抗生素治疗效果也不明显,因此证实感染因素并不为本病的直接发病原因,但对患者肠道菌落计数实验发现远超正常水平,表明感染与本病的发病有一定联系。

摘要

目的:探讨中药疏肝健脾止痢方与5-氨基水杨酸制剂治疗溃疡性结肠炎患者的临床疗效。

方法:随机将140例溃疡性结肠炎患者均分为实验组和对照组,两组患者均给予常规营养支持、局部灌肠用药和饮食治疗,实验组采取中药疏肝健脾止痢方联合5-氨基水杨酸治疗,对照组采取5-氨基水杨酸治疗,比较两组患者临床疗效、治疗前后临床症状及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平变化情况。

结果:实验组治疗显效率(52.86% vs 32.86%)及总有效率(94.29% vs 71.43%)均明显高于对照组,差异具有显著性($P<0.05$);两组患者治疗后便次(0.75 ± 0.31 vs 3.78 ± 1.89 , 1.96 ± 0.88 vs 3.79 ± 1.76)、便质稀薄(1.31 ± 0.19 vs 3.97 ± 0.71 , 2.32 ± 1.09 vs 3.87 ± 1.79)、黏液血便(1.49 ± 0.60 vs 3.16 ± 1.42 , 2.36 ± 0.22 vs 3.18 ± 1.66)以及腹痛(1.33 ± 0.69 vs 3.21 ± 0.85 , 2.19 ± 0.78 vs 3.12 ± 1.30)临床症状较治疗前均明显改善,差异具有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗后实验组各临床症状改善情况均明显优于对照组(0.75 ± 0.31 vs 1.96 ± 0.88 , 1.31 ± 0.19 vs 2.32 ± 1.09 ; 1.49 ± 0.60 vs 2.36 ± 0.22 , 1.33 ± 0.69 vs 2.19 ± 0.78),差异具有显著性($P<0.05$);两组患者治疗后TNF- α 水平均明显降低($15.37\text{ ng/L}\pm 4.56\text{ ng/L}$ vs $30.86\text{ ng/L}\pm 4.27\text{ ng/L}$, $23.35\text{ ng/L}\pm 3.37\text{ ng/L}$ vs $31.08\text{ ng/L}\pm 3.57\text{ ng/L}$),差异具有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗后实验组TNF- α 水平明显低于对照组($15.37\text{ ng/L}\pm 4.56\text{ ng/L}$ vs $23.35\text{ ng/L}\pm 3.37\text{ ng/L}$),差异具有显著性($P<0.05$);所有患者均获得3 mo电话随访,仅对照组9例患者出现不同程度腹泻,实验组并未发生不良反应,两组患者治疗后均未复发。

结论:中药疏肝健脾止痢方联合5-氨基水杨酸治疗溃疡性结肠炎临床疗效显著,安全性高,有助于降低患者血清TNF- α 水平,临床应用和推广价值较高。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中药; 5-氨基水杨酸; 溃疡性结肠炎

核心提示: 本院在西医治疗基础上加用中药疏肝健脾止痢方, 研究结果表明, 中西医结合治疗临床疗效显著优于单纯5-氨基水杨酸治疗, 患者各主要临床症状改善明显, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)水平更低, 无不良反应发生, 随

访3 mo未发现复发, 具有显著临床优势, 预后效果良好。

黄英姿, 张丽. 中药疏肝健脾止痢方治疗溃疡性结肠炎患者的临床作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3445-3449 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3445.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3445>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于临床上较为常见的慢性直肠和结肠非特异性炎症性疾病, 也被称为慢性非特异性溃疡性结肠炎, 多发于20-40岁的年轻人群^[1]. 近几年随着人们生活水平的提高, UC发病率呈现逐年升高的趋势, 由于其发病机制尚无明确研究结果因此尚无统一治疗认识^[2]. 氨基水杨酸类药物治疗是治疗UC的传统方法, 但其临床疗效不能令人满意, 不良反应发生率也较高. 我院通过采用中药疏肝健脾止痢方联合5-氨基水杨酸治疗UC取得了良好的临床效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2000-03/2011-03我院收治的140例UC患者作为研究对象. 所有患者均符合溃疡性结肠炎的相关诊断标准^[3], 临床主要表现为持续或反复发作的腹泻、腹痛、黏液脓血便及里急后重等, 经结肠镜检查发现受累结肠表现为多发性浅表性溃疡、糜烂、充血、或有覆盖脓性分泌物等病理改变^[4]. 所有患者均排除其他疾病引起的肠炎. 随机将140例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、病程等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者入院确诊后即给予常规营养支持、局部灌肠用药(每晚1次)和常规饮食治疗^[5]. 实验组在此基础上采取中西医结合治疗. 西药为5-氨基水杨酸(安徽东盛制药有限公司, 国药准字H20020211), 1.0 g/次, 3次/d^[6]. 中药为疏肝健脾止痢方, 基本方为: 炙黄芪24 g、仙鹤草15 g、茯苓12 g、党参12 g、黄柏12 g、山药12 g、柴胡9 g、生地黄9 g、郁金9 g、木香9 g、百合9 g、白芍9 g、半夏9 g、槐花9 g、枳壳9 g、甘草9 g、乌药9 g、地榆9 g^[7]. 由我院中药房煎药室统一煎制. 1剂/d, 分两次服用, 早晚饭后30 min各1次; 对照组仅给予西药5-氨基水杨酸治疗, 用药方法和剂量与实验组相同. 两组患者

表 1 两组患者临床资料比较 ($n = 70$)

项目	实验组	对照组
男性	41	40
女性	29	30
平均年龄(岁)	43.12 ± 4.53	33.97 ± 4.86
平均病程(年)	8.09 ± 2.29	7.88 ± 2.32

均治疗2个疗程即20 d, 观察临床疗效, 所有患者均获得3 mo随访。

1.2.2 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平检测: 两组患者治疗前后均取清晨空腹平静状态下肘静脉血5 mL, 使用离心机分离血清后采用双抗体夹心ELISA法进行血清TNF- α 水平检测^[8]。比较治疗前后两组患者TNF- α 水平。

1.2.3 观察指标: 两组患者治疗后均进行临床疗效评价, 并比较两组患者治疗前后临床症状(腹泻次数、脓血便、腹痛等)及TNF- α 水平变化情况。

疗效评价标准^[9]: 以患者临床症状消失, 每日大便次数不超过2次, 粪检未出现红、白细胞, 结肠镜复查显示黏膜大致正常为显效; 以患者临床症状基本消失, 每日大便次数2-4次, 粪检出现红、白细胞均不超过10个, 结肠镜复查显示黏膜轻度炎症及部分假息肉形成为有效; 以患者临床症状、粪检及结肠镜复查无改善或加重为无效。

统计学处理 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 差异性比较采用 t 检验, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效比较 实验组治疗显效率及总有效率均明显高于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表2)。

2.2 临床症状变化比较 两组患者治疗后便次、便质稀薄、粘液血便和腹痛临床症状较治疗前均明显改善, 差异具有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 治疗后实验组各临床症状改善情况均明显优于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

2.3 TNF- α 水平变化比较 两组患者治疗后TNF- α 水平均明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 治疗后实验组TNF- α 水平明显低于

表 2 两组患者临床疗效比较($n = 70, n(\%)$)

疗效	实验组	对照组
显效	37(52.86) ^a	23(32.86)
有效	29(41.43)	27(38.57)
无效	4(5.71)	20(28.57)
总有效率	94.29% ^a	71.43%

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表4)。

2.4 随访结果 所有患者均获得3 mo电话随访, 仅对照组9例患者出现不同程度腹泻, 实验组并未发生不良反应, 两组患者治疗后均未复发。

3 讨论

UC发病机制国内外尚无明确定论, 是世界临床医学界公认的疑难病症, 患者一般病程较长且病情顽固, 治疗后容易复发^[10]。同时由于患者长期处于心理压抑状态, 为治疗带来了较大不利影响。临床研究表明, 慢性UC的发病原因主要包括感染、过敏、心理、免疫以及遗传等因素^[11]。Molodecky等^[12]反复粪检未发现细菌或病毒感染, 使用抗生素治疗效果也不明显, 因此证实感染因素并不为本病的直接发病原因, 但对患者肠道菌落计数实验发现远超正常水平, 表明感染与本病的发病有一定联系; Pineton de Chambrun等^[13]的研究表明, 剔除患者饮食中的乳类食物能够明显提高治疗效果, 表明过敏因素为该病发病的重要因素; 而张淑芳等^[14]指出UC的病情恶化与患者长期精神紧张、内心压抑等负面心理有关, 心理因素在本病的发展过程中起着关键作用; UC患者临床上常伴有不同程度的自身免疫性疾病, 采取肾上腺皮质激素治疗后由显著疗效, 表明免疫因素也是该病发生和发展的重要因素之一。

目前, 临床上最长用的西医疗法为使用水杨酸盐类药物和糖皮质激素消炎、止血和止泻。其中以5-氨基水杨酸最为常用^[15]。但其治愈率效果不佳, 复发率较高。从中医角度来看, UC属于“久泻”和“久痢”的范畴, 患者多为脾胃虚弱、湿浊内生后蕴结大肠。从辨证治疗的角度来看, 本研究所使用的疏肝健脾止痢方中炙黄芪能够益气补中, 适用于气虚乏力、食少便溏者; 仙鹤草用于止血、止痢; 茯苓能够健脾化痰、败毒和抗癌; 党参有益气、生津和养血

■应用要点

采取中药疏肝健脾止痢方联合5-氨基水杨酸治疗溃疡性结肠炎临床疗效显著, 安全性高, 复发率低, 应用和推广价值较高。

■同行评价

本文选题实用, 治疗方法有效, 对临床医师具有参考价值。

表 3 两组患者治疗前后临床症状变化 ($n = 70$, mean \pm SD)

临床症状	实验组		对照组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
便秘	3.78 \pm 1.89	0.75 \pm 0.31 ^{bc}	3.79 \pm 1.76	1.96 \pm 0.88 ^a
便质稀薄	3.97 \pm 0.71	1.31 \pm 0.19 ^{bc}	3.87 \pm 1.79	2.32 \pm 1.09 ^a
粘液血便	3.16 \pm 1.42	1.49 \pm 0.60 ^{bc}	3.18 \pm 1.66	2.36 \pm 0.22 ^a
腹痛	3.21 \pm 0.85	1.33 \pm 0.69 ^{bc}	3.12 \pm 1.30	2.19 \pm 0.78 ^a

^a $P < 0.05$ vs 本组治疗前; ^b $P < 0.01$ vs 本组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。

表 4 两组患者治疗前后TNF- α 水平变化(ng/L, $n = 70$, mean \pm SD)

项目	实验组	对照组
治疗前	30.86 \pm 4.27	31.08 \pm 3.57
治疗后	15.37 \pm 4.56 ^{bc}	23.35 \pm 3.37 ^a

^a $P < 0.05$ vs 本组治疗前; ^b $P < 0.01$ vs 本组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。

之功效; 黄柏能够清热燥湿、解毒疗疮; 山药则可益气养阴、补益脾肾, 还能化痰止咳; 柴胡能够透疏肝解郁、升举阳气; 生地黄用于清热、生津和养血; 郁金则可行气化瘀、活血止痛、清心解郁、清心凉血; 木香能够行气止痛、健脾消食; 百合用于润肺养胃; 白芍能够养血泻肝, 达到平肝止痛、敛阴止汗和养血调经的效果; 半夏可降逆止呕、消痞散结; 槐花用于清肝泻火、凉血止血; 枳壳能够破气、消积; 乌药能够疏散凝滞、止翻胃、缩小便; 地榆用于清热解毒、凉血止血和消肿; 而甘草能够和中益脾, 调和诸药^[6]。

我院在西医治疗基础上加用中药疏肝健脾止痢方, 研究表明, 中西医结合治疗临床疗效显著优于单纯5-氨基水杨酸治疗, 患者各主要临床症状改善明显, TNF- α 水平更低, 无不良反应发生, 随访3 mo未发现复发, 具有显著临床优势, 预后效果良好。

总之, 采取中药疏肝健脾止痢方联合5-氨基水杨酸治疗溃疡性结肠炎临床疗效显著, 安全性高, 复发率低, 应用和推广价值较高。

4 参考文献

- 1 石生源. 慢性溃疡性结肠炎临床治疗分析. 临床医学 2011; 34: 83

- 2 桑力轩, 刘汉立, 姜敏. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2249-2254
- 3 中华医学会消化病学分会. 对炎症性肠病诊断治疗规范的建议. 中华消化杂志 2001; 21: 236-237
- 4 Travis SP, Stange EF, Lémann M, Oresland T, Bemelman WA, Chowers Y, Colombel JF, D'Haens G, Ghosh S, Marteau P, Kruis W, Mortensen NJ, Penninckx F, Gassull M. European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Current management. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 24-62 [PMID: 21172195 DOI: 10.1016/j.crohns.2007.11.002]
- 5 王丽娟. 综合治疗慢性溃疡性结肠炎临床分析. 中国医药指南 2011; 09: 81-82
- 6 沈娟, 李俊霞, 王化虹, 李懿璇, 田雨, 刘新光. 5-氨基水杨酸维持治疗溃疡性结肠炎114例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 416-420
- 7 朱磊, 沈洪. 中医药治疗溃疡性结肠炎临床疗效的荟萃分析. 辽宁中医杂志 2012; 39: 1297-1298
- 8 Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfertheiner Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 112-124 [PMID: 19653289 DOI: 10.1002/ibd.21048]
- 9 Wang YF, Ouyang Q, Hu RW. Progression of inflammatory bowel disease in China. *J Dig Dis* 2010; 11: 76-82 [PMID: 20402832 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00421.x]
- 10 Ng SC, Kamm MA. Therapeutic strategies for the management of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 935-950 [PMID: 18985710 DOI: 10.1002/ibd.20797]
- 11 Kane S, Lu F, Kornbluth A, Awais D, Higgins PD. Controversies in mucosal healing in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 796-800 [PMID: 19213060 DOI: 10.1002/ibd.20875]
- 12 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
- 13 Pineton de Chambrun G, Peyrin-Biroulet L, Lémann M, Colombel JF. Clinical implications of mucosal healing for the management of IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 15-29 [PMID: 19949430 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.203]

- 14 张淑芳, 吴小平. 心理社会因素与炎症性肠病关系的研究现状. 国际消化病杂志 2008; 28: 224-226
- 15 郑家驹, 庞智. 氨基水杨酸制剂治疗溃疡性结肠炎的临床应用. 现代消化及介入诊疗 2008; 3: 231-234
- 16 于海食, 洪纓, 王玉蓉. 溃疡性结肠炎的中西药物治疗概况. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3979-3983

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第 3 套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

中药超声导入对溃疡性结肠炎患者的临床疗效及其细胞因子的影响

杨旭, 王元钊, 叶妮, 王轶, 张苏闽, 方健, 周惠芬

■背景资料

国内报道的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病例明显增多, 但本病病因及发病机制目前尚不明确, 且反复发作, 病程较长, 治疗无特异性方案。中医药疗法在诱导缓解, 维持缓解, 改善生活质量及降低不良反应等方面存在一定优势, 尤其中医药与现代科技的结合应用, 在提高疗效, 减少不良反应等方面有重要意义。

杨旭, 王元钊, 叶妮, 王轶, 南京市中西医结合医院 江苏省南京市 210014

张苏闽, 方健, 周惠芬, 南京中医药大学第三附属医院 全国肛肠病医疗中心 江苏省南京市 210001

杨旭, 医学硕士, 主要从事IBD的基础与临床的研究。

江苏省中医药局科技基金资助项目, No. LZ09088

南京市医学科技发展基金重点资助项目, No. ZKX09038

作者贡献分布: 杨旭与王元钊对本文所作贡献均等; 此课题由杨旭、王元钊、张苏闽及周惠芬设计; 研究过程由杨旭、王元钊、叶妮、王轶、张苏闽、方健及周惠芬操作完成; 研究所用试剂及分析工具由张苏闽提供; 数据分析由杨旭与周惠芬完成; 论文写作由杨旭、王元钊及周惠芬完成。

通讯作者: 周惠芬, 主治医师, 210001, 南京市秦淮区金陵路1号, 南京市中医院全国肛肠病医疗中心便秘平台。

yxtcm.best@gmail.com

电话: 025-52276117

收稿日期: 2013-08-05 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-11-08

Effect of treatment with Chinese medicine delivered by sonophoresis on serum levels of cytokines in patients with ulcerative colitis

Xu Yang, Yuan-Zhao Wang, Ni Ye, Yi Wang, Su-Min Zhang, Jian Fang, Hui-Fen Zhou

Xu Yang, Yuan-Zhao Wang, Ni Ye, Yi Wang, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Su-Min Zhang, Jian Fang, Hui-Fen Zhou, Nanjing Hospital of TCM, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Supported by: the Key Program of Nanjing Medical Science and Technology Development Foundation, No. ZKX09038; and the Science and Technology Fund of Jiangsu Provincial Administration of TCM, No. LZ09088

Correspondence to: Hui-Fen Zhou, Attending Physician, National Anorectal Medical Center of China, Nanjing Hospital of TCM, Jinling Road, Qinhuai District, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. yxtcm.best@gmail.com

Received: 2013-08-05 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To observe the effect of treatment with Chinese medicine delivered by sonophoresis in patients with mild to moderate ulcerative colitis (UC), and to detect the changes in serum levels of cytokines.

■同行评议者

魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

METHODS: This was a randomized controlled trial involving 67 patients with mild to moderate UC. These patients were randomly divided into either a treatment group ($n = 33$) or a control group ($n = 34$). All patients were given oral mesalazine enteric-coated tablets, 1.0 g, *tid*, while the treatment group was additionally given Chinese medicine (Shenlingbaizhu Powder) by sonophoresis, *qd*. The course of treatment was 3 months in both groups. Clinical symptoms were scored before treatment and 28, 56 and 84 d after treatment. Inflammation degree was scored using the Baron's classification. Southerland disease active index (DAI) was calculated, and serum levels of interleukin-10 (IL-10) and IL-18 were measured before and after treatment.

RESULTS: The total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (84.85% *vs* 70.59%, $P < 0.05$). The scores of abdominal pain, diarrhea and purulent stools were significantly decreased in both groups after treatment (all $P < 0.05$). The differences in Baron's scores and Southerland DAI before and after treatment were significant in both groups (both $P < 0.05$). Three months after treatment, the average serum level of IL-18 was significantly decreased and that of IL-10 was increased, which was more significant in the treatment group ($P < 0.05$). No adverse reaction was found in both groups.

CONCLUSION: Chinese medicine delivered by sonophoresis shows an appreciated therapeutic effect in patients with mild to moderate UC, which may be related with the regulation of cytokine levels.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Chinese medicine; Sonophoresis; Cytokines

Yang X, Wang YZ, Ye N, Wang Y, Zhang SM, Fang J, Zhou HF. Effect of treatment with Chinese medicine

delivered by sonophoresis on serum levels of cytokines in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3450-3455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3450>

摘要

目的: 观察中药超声导入辅助治疗轻中度溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的临床疗效,并初步探讨其对UC患者细胞因子的影响。

方法: 采用随机对照试验研究,将符合纳入标准的轻中度UC患者67例随机分为两组(对照组34例,试验组33例),均予以美沙拉嗪肠溶片1.0 g,口服, *tid*; 其中试验组加中药(参苓白术散加减)超声导入治疗, *qd*; 疗程均为3 mo,分别记录两组患者治疗前后的临床症状积分, Southerland疾病活动指数(disease active index, DAI), 肠镜检查Baron's积分及患者血清中细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)及IL-18的变化等。

结果: 治疗3 mo后, 2组均未见不良反应发生, 试验组患者总有效率84.85%显著高于对照组为70.59%($P<0.05$), 治疗后两组患者腹痛、腹泻及黏液脓血便症状积分均有明显降低, 且试验组优于对照组($P<0.05$); 两组患者治疗后DAI及Baron's积分均有显著改善($P<0.05$), 但组间差异无统计学意义($P>0.05$); 两组患者治疗后血清中IL-18含量均降低, 且试验组降低程度明显优于对照组($P<0.05$), 而血清IL-10均升高, 且与对照组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 中药超声导入辅助治疗轻中度UC疗效确切, 值得临床推广应用, 其作用机制可能与调节血清细胞因子表达水平有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 中药; 超声导入; 细胞因子

核心提示: 采用随机对照试验研究, 观察了中药超声导入治疗对轻中度活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者治疗前及治疗后第29、57及85 d的临床症状积分的动态变化, 及治疗前后Southerland疾病活动指数(disease active index, DAI), 肠镜检查Baron's积分及患者血清中细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)及IL-18的变化等。结果显示中药超声导入辅助治疗UC(轻中度、活动期)疗效确切, 值得临床推广应用, 其作用机制可能与调节血清细胞因子表达水平有关。

杨旭, 王元钊, 叶妮, 王轶, 张苏闽, 方健, 周惠芬. 中药超声导入对溃疡性结肠炎患者的临床疗效及其细胞因子的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(31): 3450-3455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3450>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 病变常累及结肠黏膜及黏膜下层, 属炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)范畴, 本病在西方国家发病率远高于亚洲、非洲等国家^[1,2]。近年来, 随着我国经济科技水平之发展、居民生活条件之改善以及医疗诊断技术之提高, 国内报道的UC病例明显增多, 但本病病因及发病机制目前尚不明确, 且反复发作, 病程较长, 治疗无特异性方案^[3-6]。中医药疗法在诱导缓解, 维持缓解, 改善生活质量及降低不良反应等方面存在一定优势, 本研究观察中药超声导入法辅助治疗轻中度活动期UC患者临床疗效, 并观察其对机体细胞因子的影响, 以期初步探讨中药超声导入法治疗UC的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 所有病例均来自南京市中西医结合医院及南京中医药大学第三附属医院门诊及收住院的轻中度活动期UC患者, 采用随机数字表法, 将UC患者随机分为试验组和对照组, 共纳入患者72例, 脱落5例, 有效病例67例, 其中对照组34例, 试验组33例, 其中对照组患者的平均年龄为36.47岁 \pm 7.83岁; 男性15例(44.12%), 女性19例(55.88%); 平均病程为2.83年 \pm 0.39年; 病情程度评估: 轻度13例(38.24%), 中度21例(61.76%); 临床类型: 初发型5例, 慢性复发型19例, 慢性持续型10例; 病变部位: 直肠4例, 直乙状结肠17例, 左半结肠8例, 广泛结肠5例。试验组UC患者平均年龄为33.92岁 \pm 8.17岁; 男性17例(51.52%), 女性16例(48.48%); 平均病程为3.41年 \pm 0.72年; 病情程度评估为轻度15例(45.46%), 中度18例(54.54%); 临床类型为初发型4例, 慢性复发型17例, 慢性持续型12例; 病变部位: 直肠5例, 直乙状结肠15例, 左半结肠6例, 广泛结肠7例。两组患者在平均年龄、性别比例、病程、病情程度、临床类型及病变部位等基线资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。诊断标准: (1) 西医诊断符合中华医学会消化病学分会IBD协

■ 研发前沿

UC被WHO定为现代医学难治病之一, 目前尚无疗效确切的方案, 国内中华医学会消化病分会IBD协作组发布的“我国炎症性肠病的诊断和治疗共识意见”中提出UC的治疗方案中应重视中医药的在维持缓解, 减少不良反应和提高生活质量中的重要作用。

■相关报道

Escobar-Chávez及Charoo等报道了超声导入治疗, 基于继口服和注射之后的第3代给药途径-经皮给药技术理论的应用, 能够扩张局部血管, 提高细胞膜通透性, 同时增加毛细血管网的开放, 促进侧支循环建立, 利于中药透皮吸收, 促进疾病康复, 疗效确切, 具有无肝脏首过效应、药效稳定持久、无痛无创等优点。

作组《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》中UC的诊断标准^[7]; 采用Southerland疾病活动指数(disease active index, DAI)评估标准评估为3-10分即轻-中度活动期; (2)中医诊断符合中华中医药学会脾胃病分会《溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见》^[8]中医辨证分型属脾虚湿蕴型: 主症: 大便溏薄, 黏液白多赤少, 或为白冻; 舌质淡红, 边有齿痕, 苔白腻。次症: 腹痛隐隐; 脘腹胀满, 食少纳差; 肢体倦怠, 神疲懒言; 脉细弱或细滑。纳入标准: 符合上述中西医诊断为UC患者; 采用Southerland DAI评分为3-10分即轻-中度活动期UC患者; 符合中医辨证分型为脾虚湿蕴证; 年龄18-65岁; 男女不限; 患者知情同意, 签订同意书。排除标准: 重度及急性暴发型UC患者; 孕、产妇及哺乳期女性; 合并心脑血管、肝、肾及造血系统等原发性疾病, 精神病患者; 伴有结肠狭窄、梗阻、肠穿孔、中毒性巨结肠、结直肠癌等严重并发症者; 中药过敏者。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组: 莎尔福(美沙拉嗪肠溶片, mesalazine enteric-coated tablets)(德国霍克大药厂, Dr. Falk Pharma GmbH), 0.5 g×40片×1盒。1.0 g, 口服, *tid*; 试验组: 美沙拉嗪肠溶片1.0 g, 口服, *tid*, 联合中药超声导入治疗, *qd*。治法: 益气健脾, 化湿助运; 主方: 参苓白术散加减; 药物: 党参、茯苓、炒白术、山药、炒薏苡仁、砂仁、陈皮、木香、黄连、地榆等, 由本院制剂室研磨调制成糊状。仪器: 采用超声联合治疗仪(深圳德迈科技有限公司生产, 型号DM-200B)治疗。穴位: 天枢、脾俞、足三里、上巨虚; 将中药均匀填于超声探头粘贴面, 粘于患者穴位处, 行P2档治疗, 时间30 min, *qd*, 两组患者疗程均为3 mo。

1.2.2 临床症状积分: 参照《中药新药临床研究指导原则》^[9]制定相关症状量化评分标准对症状进行量化评分, 针对UC患者主要临床症状: 腹泻、腹痛及黏液脓血便, 严重程度分为正常记0分、轻度记3分、中度记6分及重度记9分。分别评估两组患者治疗前、治疗后第29天、第57天及第85天的相关主要临床症状积分。

1.2.3 Southerland DAI积分及肠镜检查Baron's积分: 分别对两组患者治疗前、后进行Southerland DAI评分^[10]和行电子显微结肠镜检查, 内镜下炎症程度参考Baron's分级进行判断^[11], 其标准为: 正常黏膜图像记0分; 轻度病变(血管纹理模糊, 黏膜充血但无出血)记1分; 中度病变(黏膜呈颗

粒样变化, 中度接触性出血)记2分; 重度病变(黏膜溃疡并自发性出血)记3分。观察并评价治疗前后记分变化。

1.2.4 细胞因子变化: 采用购自深圳晶美生物工程公司的试剂盒, 用酶联免疫吸附试验方法(enzyme-linked immunoabsorbent assay, ELISA)分别检测两组UC患者治疗前、后血清中细胞因子白介素(interleukin, IL)-18及IL-10的水平。

1.2.4 疗效判断: 根据《对我国IBD诊断治疗规范的共识意见》^[7]中的UC疗效判定标准: 完全缓解: 临床症状消失, 结肠镜复查见黏膜大致正常。有效: 临床症状基本消失, 结肠镜复查见黏膜轻度炎症或假息肉形成。无效: 经治疗后临床症状、内镜和病理检查结果均无改善。

1.2.5 不良反应: 分别检测两组患者治疗前后的血常规、粪常规+隐血、尿常规、血生化、血沉、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、心电图等指标, 并观察治疗期间有无消化系反应、药物性皮炎等不良反应。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据处理, 计量资料以mean±SD表示, 两组间的比较采用独立样本 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 等级资料采用Wilcoxon秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者总体疗效比较 试验组患者完全缓解8例, 有效20例, 无效5例, 总有效率[总有效率=(完全缓解+有效)/总例数×100%]为84.85%; 对照组患者完全缓解3例, 有效21例, 无效10例, 有效率为70.59%; 两组间临床疗效比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 两组患者治疗前后各症状动态评估积分比较 对照组UC患者治疗2 mo后黏液脓血便症状积分显著降低($P<0.05$), 而腹泻、腹痛症状评估积分在治疗3 mo后明显下降($P<0.05$)。试验组患者在治疗1 mo后腹痛、黏液脓血便症状积分明显下降($P<0.05$), 2 mo后腹泻症状积分得以好转($P<0.05$)。组间比较: 治疗1 mo后试验组患者腹痛评估积分下降优于对照组($P<0.05$), 治疗2 mo后试验组患者的腹泻、黏液脓血便症状积分降低与对照组间差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.3 两组患者治疗前后Southerland DAI积分变化及肠镜检查Baron's积分比较 治疗3 mo后: 试验组患者Southerland DAI积分为1.63分±0.31分, 显著低于治疗前5.96分±1.47分($P<0.05$);

表 1 两组患者治疗前、后各症状动态评估积分比较 (n , mean \pm SD)

分组	时间	腹泻	腹痛	黏液脓血便
对照组 ($n = 34$)	治疗前	3.97 \pm 1.03	4.03 \pm 1.24	2.93 \pm 0.79
	治疗后第29 d	3.39 \pm 1.26	3.27 \pm 1.36	2.18 \pm 0.49
	治疗后第57 d	2.99 \pm 1.04	2.55 \pm 0.72	1.54 \pm 0.31 ^a
	治疗后第85 d	1.63 \pm 0.51 ^a	1.38 \pm 0.69 ^a	1.04 \pm 0.36 ^a
试验组 ($n = 33$)	治疗前	4.20 \pm 0.92	3.58 \pm 1.07	3.17 \pm 0.88
	治疗后第29 d	3.20 \pm 1.03	1.49 \pm 0.64 ^{ac}	1.96 \pm 0.62 ^a
	治疗后第57 d	1.58 \pm 0.46 ^{ac}	1.03 \pm 0.21 ^{ac}	1.02 \pm 0.32 ^{ac}
	治疗后第85 d	0.78 \pm 0.26 ^{ac}	1.01 \pm 0.21 ^{ac}	0.81 \pm 0.11 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 本组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组同时间点.

表 2 两组UC患者治疗前后IL-18及IL-10的变化 (n , mean \pm SD, ng/L)

分组	时间	n	IL-18	IL-10
试验组	治疗前	33	188.31 \pm 21.49	69.38 \pm 23.64
	治疗后	33	91.17 \pm 27.65 ^{ac}	118.26 \pm 26.39 ^{ac}
对照组	治疗前	34	191.26 \pm 29.73	71.92 \pm 21.17
	治疗后	34	121.83 \pm 27.58 ^a	92.45 \pm 20.41 ^a

^a $P < 0.05$ vs 本组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组同时间点. IL: 白介素.

对照组UC患者的Southerland DAI积分1.78分 \pm 0.49分较治疗前5.18分 \pm 1.35分亦明显下降($P < 0.05$). 组间比较积分变化差异无统计学意义($P > 0.05$). 治疗后两组患者的肠镜检查Baron's积分均有显著改善($P < 0.05$), 而组间比较无明显差异($P > 0.05$).

2.4 治疗前后相关细胞因子变化 两组患者治疗后血清中IL-18含量均降低, 且试验组降低程度明显优于对照组($P < 0.05$); 血清IL-10含量治疗后升高, 且与对照组间差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

两组患者治疗前后的常规检查、心电图等均无特殊改变, 未见不良反应发生.

3 讨论

UC是一种病因尚未明确的结肠黏膜慢性非特异性炎症性疾病, 病变主要累及黏膜及黏膜下层, 具有病程漫长, 反复发作, 迁延难愈等特点, 且有发生癌变之可能, 被WHO列为现代难治病之一. 祖国医学认为本病属于“泄泻”、“久痢”等疾病范畴, 多因饮食不节、情志内伤、外感时邪、素体脾肾不足所致, 脾虚、湿蕴等是其基本病理因素, 正如《医宗金鉴》所曰“泻成于湿, 湿皆成于脾虚”, 病位虽在大肠

腑, 与脾、肝、肾诸脏密切相关, 基本病机为脾虚失健, 湿热蕴肠, 气滞络瘀. 临床治疗多根据不同患者的临床类型, 病情程度, 病情分期及病变部位等的不同, 辩证施治即予以中西医结合的个体化治疗方案^[12,13]. 本研究纳入的UC患者均为轻中度活动期、中医辨证分型属脾虚湿蕴证患者, 试验组采用中药(参苓白术散加减)超声导入辅助治疗, 一方面, 基于继口服和注射之后的第3代给药途径-经皮给药技术理论的应用^[14,15], 中药超声导入治疗即利用现代科技物理医学技术, 通过超声导入扩张局部血管, 提高细胞膜通透性, 同时增加毛细血管网的开放, 促进侧支循环建立, 利于中药透皮吸收, 促进疾病康复, 疗效确切, 具有无肝脏首过效应, 药效稳定持久, 无痛无创等优点^[16,17], 是祖国医学外治法的拓展. 另一方面, 是基于祖国医学经络脏腑相关理论学说, 通过超声导入产生机械效应及温热效应刺激穴位而治疗脏腑相关疾病; 本研究选取大肠募穴天枢调大肠腑气, 脾俞、足三里益气健脾助运, 大肠下合穴上巨虚以“合治内腑”, 共达益气健脾助运、化湿止泻之功. 再一方面, 中药选用参苓白术散加减, 方含四君子汤: 党参、茯苓、炒白术、炙甘草益气健脾, 炒薏苡仁助白术、茯苓以健脾渗湿, 砂仁、陈皮行气化湿,

■创新盘点

本研究运用中药超声导入法治疗轻中度活动期UC患者临床疗效, 并观察其对机体细胞因子的影响, 并从细胞因子IL参与免疫反应和炎症过程的角度初步探讨中药超声导入法治疗UC的可能机制.

■应用要点

中药超声导入法辅助治疗轻中度活动期UC患者的临床疗效确切,值得临床推广应用,且可下调促炎症性细胞因子IL-18水平、升高抗炎细胞因子IL-10水平。但其对UC患者的远期疗效如何及具体的作用机制等问题均待我们通过大量科学、规范的临床试验加以阐述。

桔梗宣肺利气,通调水道,配伍木香、黄连(香连丸)善治泄泻腹痛里急后重等共达益气健脾渗湿止泻之功。观察试验组患者总有效率显著高于仅口服美沙拉嗪肠溶片的对照组患者($P<0.05$),在对腹痛、腹泻及黏液脓血便等相关主要症状诱导缓解作用亦优于对照组,症状评估积分显著变化的时间缩短,尤其对患者腹痛症状的改善显著($P<0.05$)。

众所周知,目前UC病因病机尚未完全明确,但免疫异常在其发病中的重要作用已被国内外学者及临床医师所公认,而细胞因子IL参与免疫反应和炎症过程是目前研究热点之一,其中IL-10为Th2型细胞分泌,又名细胞因子合成抑制因子,其免疫调节作用是抑制激活的单核细胞、粒细胞、巨噬细胞、T细胞发挥有效功能,是黏膜免疫中一种重要的细胞因子调节剂,在肠道黏膜内环境稳定中发挥重要作用。文献报道活动期UC患者血清中IL-10的表达较对照组降低,且与病情严重程度有相关性,可作为UC病变状态的参考指标^[18-20]。我们研究也发现治疗前处于疾病活动期UC患者的血清IL-10水平在干预后均显著升高,且试验组患者血清IL-10表达改变程度优于对照组($P<0.05$)。IL-18为促炎症性细胞因子,能促进IL-1和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)产生、诱导Th1细胞产生干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ),并诱导肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和多种趋化因子的基因表达,参与多种免疫性疾病的发生,研究表明,IL-18的表达水平与UC患者的血清CRP、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、Southerland DAI以及临床活动指数(clinical activity index, CAI)等存在相关性,可作为观察UC患者病情发展、活动性和判断预后的重要指标^[21,22]。研究发现辅助中药超声导入干预后的UC患者血清IL-18水平显著降低,与对照组间差异有统计学意义($P<0.05$)。据此我们推测中药(参苓白术散加减)超声导入辅助治疗轻中度活动期UC的作用机制可能与下调促炎症性细胞因子IL-18水平、升高抗炎细胞因子IL-10水平有关,但本研究仅观察了中药超声导入法对轻中度活动期UC患者的临床疗效及两类细胞因子变化,其对UC患者的远期疗效如何及具体的作用机制等问题均待我们通过大量科学、规范的临床试验加以阐述。

4 参考文献

- Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
- Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 501-523; quiz 524 [PMID: 20068560 DOI: 10.1038/ajg.2009.727]
- Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年, 广州). *中华消化杂志* 2012; 32: 796-813
- Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 158-161 [PMID: 11833094]
- 杨旭, 章金春, 李梅, 丁义江, 张苏闽. 食物不耐受与炎症性肠病. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3182-3185
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 中华中医药学会脾胃病分会. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见. *中华中医药杂志* 2010; 25: 891-895
- 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 129-134
- 杨旭, 周惠芬, 张苏闽, 王元钊, 叶妮, 赵璟. 中药导入气流弥散法对溃疡性结肠炎患者食物不耐受状态的影响. *中医杂志* 2012; 53: 1937-1940
- Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE. Variation between observers in describing mucosal appearances in proctocolitis. *Br Med J* 1964; 1: 89-92 [PMID: 14075156]
- 王新月, 王建国. 溃疡性结肠炎中医药治疗的关键问题与优势对策. *中华中医药杂志* 2012; 27: 263-267
- 张声生, 崔超, 吴兵, 赵鲁卿, 周滔, 汪红兵, 朱培一, 邓晋妹, 沈洪. 中医药分期治疗溃疡性结肠炎27例临床研究. *中医杂志* 2012; 53: 122-125
- Escobar-Chávez JJ, Bonilla-Martínez D, Villegas-González MA, Rodríguez-Cruz IM, Domínguez-Delgado CL. The use of sonophoresis in the administration of drugs throughout the skin. *J Pharm Pharm Sci* 2009; 12: 88-115 [PMID: 19470295]
- Charoo NA, Rahman Z, Repka MA, Murthy SN. Electroporation: an avenue for transdermal drug delivery. *Curr Drug Deliv* 2010; 7: 125-136 [PMID: 20158490]
- 朱小虎, 王俊华, 杨坤, 王刚, 谢谨, 邹季. 青鹏膏超声导入配合推拿治疗颈性眩晕临床观察. *中国中医急症* 2012; 21: 1137-1138
- 陈志, 张广宇, 梁建琴, 王金河, 冯士生. 抗结核药物超声导入治疗浅表淋巴结核的临床观察. *西南国防医药* 2011; 21: 149-151
- Ebert EC, Panja A, Das KM, Praveen R, Geng X, Rezac C, Bajpai M. Patients with inflammatory bowel disease may have a transforming growth factor-beta-, interleukin (IL)-2- or IL-10-deficient state induced by intrinsic neutralizing antibodies. *Clin Exp Immunol* 2009; 155: 65-71 [PMID: 19076830 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03802.x]

- 19 魏思忱, 郑国启, 田树英, 张秀刚, 孔郁, 李春英, 魏新亮. IL-10在溃疡性结肠炎患者血清中的表达及意义. *河北医药* 2010; 32: 559-560
- 20 Fonseca-Camarillo G, Furuzawa-Carballeda J, Llorente L, Yamamoto-Furusho JK. IL-10- and IL-20-expressing epithelial and inflammatory cells are increased in patients with ulcerative colitis. *J Clin Immunol* 2013; 33: 640-648 [PMID: 23207823 DOI: 10.1007/s10875-012-9843-4]
- 21 Haas SL, Abbatista M, Brade J, Singer MV, Böcker U. Interleukin-18 serum levels in inflammatory bowel diseases: correlation with disease activity and inflammatory markers. *Swiss Med Wkly* 2009; 139: 140-145 [PMID: 19274491]
- 22 Wiercinska-Drapalo A, Flisiak R, Jaroszewicz J, Prokopowicz D. Plasma interleukin-18 reflects severity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 605-608 [PMID: 15641156]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



■同行评价

本文研究选题新颖, 观察中药超声导入法治疗轻中度活动期UC患者临床疗效, 并观察其对机体细胞因子的影响, 并从细胞因子IL参与免疫反应和炎症过程的角度初步探讨中药超声导入法治疗UC的可能机制, 对UC的临床治疗以及中药超声导入法治疗UC机制的进一步探讨提供了新的视角。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

老年肥胖男性直肠癌患者根治手术中直肠韧带处理方式及临床效果

熊忠荣, 李清平, 刘治昆, 蒋亚兰

■背景资料

在我国, 结直肠癌恶性肿瘤的发病率也随着人群饮食习惯的改变而不断升高。直肠癌占有大肠癌的65%左右, 约半数患者能够在疾病的早期接受一个可能将恶性肿瘤治愈的根治性切除术, 但仍有部分患者会在切除的部位复发。

熊忠荣, 李清平, 刘治昆, 蒋亚兰, 广西桂林市中医医院外一科 广西壮族自治区桂林市 541002

熊忠荣, 主治医师, 主要从事肛肠疾病的研究。

作者贡献分布: 此文章由熊忠荣独立写作完成; 李清平、刘治昆及蒋亚兰参与研究设计。

通讯作者: 熊忠荣, 主治医师, 541002, 广西壮族自治区桂林市象山区临桂路2号, 广西省桂林市中医医院外一科。

670126400@qq.com

收稿日期: 2013-08-21 修回日期: 2013-09-27

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-08

Efficacy of paralleled clipping of rectal ligament in resection of rectal cancer in elderly obese male patients

Zhong-Rong Xiong, Qing-Ping Li, Zhi-Kun Liu, Ya-Lan Jiang

Zhong-Rong Xiong, Qing-Ping Li, Zhi-Kun Liu, Ya-Lan Jiang, Department of Surgery, Guilin Traditional Chinese Medicine Hospital, Guilin 541002, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China

Correspondence to: Zhong-Rong Xiong, Attending Physician, Department of Surgery, Guilin Traditional Chinese Medicine Hospital, 2 Lingui Road, Xiangshan District, Guilin 541002, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. 670126400@qq.com

Received: 2013-08-21 Revised: 2013-09-27

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of paralleled clipping of rectal ligament in resection of rectal cancer in elderly obese male patients.

METHODS: Ninety-two elderly obese male patients with rectal cancer were randomly divided into either a control group or an experimental group, with 46 patients in each group. The control group underwent regular handling of rectal ligament in resection of rectal cancer, while the experimental group underwent paralleled clipping of rectal ligament. Intraoperative and post-operative indices were compared between the two groups.

RESULTS: The operative time and the rate of

rectal ulceration were significantly lower in the experimental group than in the control group ($67.2 \text{ min} \pm 10.3 \text{ min}$ vs $124.8 \text{ min} \pm 11.8 \text{ min}$, 0.0% vs 15.2% , $t = 24.942$, $\chi^2 = 7.577$, $P = 0.000$, 0.006). There was no significant difference in intraoperative bleeding and the rate of ureteral injury between the two groups ($157.9 \text{ mL} \pm 26.2 \text{ mL}$ vs $154.2 \text{ mL} \pm 27.4 \text{ mL}$, 2.2% vs 4.3% , $t = 0.662$, $\chi^2 = 0.662$, 0.345 , $P = 0.510$, 0.557). The rates of mesorectal disintegrity and pelvic infection were significantly lower in the experimental group than in the control group (2.2% vs 17.4% , 4.3% vs 19.6% , $\chi^2 = 6.035$, 5.060 , $P = 0.014$, 0.024).

CONCLUSION: Paralleled clipping of rectal ligament in resection of rectal cancer can reduce surgical difficulty and improve surgical safety in elderly obese male patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Elderly obese male patients; Resection of rectal cancer; Rectal ligament; Paralleled clipping

Xiong ZR, Li QP, Liu ZK, Jiang YL. Efficacy of paralleled clipping of rectal ligament in resection of rectal cancer in elderly obese male patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3456-3459 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3456.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3456>

摘要

目的: 探讨分析平行推剪直肠韧带技术在老年肥胖男性直肠癌根治术中的应用及其临床效果。

方法: 选取我院于2010-03/2013-05收治的92例老年男性直肠癌患者, 将所有患者按随机数法分为实验组与对照组, 两组均为46例。对照组在手术过程中采用常规的直肠韧带处理方式, 实验组在手术过程采用平行剪推韧带技术, 对比分析两组患者手术中及术后的各项情况。

结果: 实验组手术时间及术中肠管破溃率均

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

明显少于对照组($67.2 \text{ min} \pm 10.3 \text{ min}$, 0.0% vs $124.8 \text{ min} \pm 11.8 \text{ min}$, 15.2% , $t = 24.942$, $\chi^2 = 7.577$, $P = 0.000$, 0.006), 两组术中出血及尿道损伤几率的差异比较无统计学意义($157.9 \text{ mL} \pm 26.2 \text{ mL}$, 2.2% vs $154.2 \text{ mL} \pm 27.4 \text{ mL}$, 4.3% , $t = 0.662$, $\chi^2 = 0.345$, $P = 0.510$, 0.557); 且实验组术后盆腔感染及大体标本直肠周围系膜不完整的几率明显低于对照组(2.2% , 4.3% vs 17.4% , 19.6% , $\chi^2 = 6.035$, 5.060 , $P = 0.014$, 0.024).

结论: 平行推剪韧带技术降低了老年肥胖男性直肠癌根治术的难度, 提高了手术的安全性, 故值得推广.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 老年肥胖男性患者; 直肠癌根治术; 直肠韧带; 平行推剪技术

核心提示: 本次研究中, 结果显示实验组手术时间、术中出血及术中肠管破溃率均明显少于对照组, 两组术中尿道损伤几率的差异比较无统计学意义, 且由于发生肠管破溃的情况较为少见, 实验组术后盆腔感染及大体标本直肠周围系膜不完整的几率明显低于对照组. 从理论的层面上来看, 该项技术还有效地保护了盆腔内的植物神经丛, 由于推剪时操作方向与盆内侧壁平行, 若肿瘤没有对盆壁或骶前进行浸润, 则操作过程中损伤神经丛的风险很低.

熊忠荣, 李清平, 刘治昆, 蒋亚兰. 老年肥胖男性直肠癌患者根治手术中直肠韧带处理方式及临床效果. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3456-3459 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3456.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3456>

0 引言

在西方发达国家, 大肠癌是发病率位居第3位的恶性肿瘤^[1]. 在我国, 结直肠癌恶性肿瘤的发病率也随着人群饮食习惯的改变而不断升高. 直肠癌占有大肠癌的65%左右, 约半数患者能够在疾病的早期接受一个可能将恶性肿瘤治愈的根治性切除术, 但仍有部分患者会在切除的部位复发^[2,3]. 尤其是肥胖的男性患者, 由于其骨盆的空间相对女性患者而言更小, 手术过程中对于直肠韧带的暴露存在着一定的难度, 这对于全直肠系膜切除术的效果及手术难度产生了一定的影响^[4]. 本次研究探讨分析了平行推剪直肠韧带技术在老年肥胖男性直肠癌根治术中的应用及其临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-03/2013-05我院收治的老年男性直肠癌患者92例, 纳入标准: (1)男性; (2)年龄 ≥ 65 岁; (3)体质量指数(body mass index, BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$; (4)术前结肠镜检查及术后病理确诊为直肠癌, 且术前CT及术中探查显示肿瘤未浸润盆腔壁; (5)所有患者均自愿签署书面知情同意书, 并经我院伦理委员会审核通过. 将所有患者按随机数法分为实验组与对照组, 两组均为46例. 实验组与对照组一般情况的差异比较无统计学意义, 具有可比性($P > 0.05$)(表1).

1.2 方法 实验组: 患者取截石位, 头低足高, 全麻后作下腹部正中切口. 对肿瘤的具体情况进行探查, 并决定是否保留植物神经. 将肠系膜下动静脉游离并暴露, 同时将血管根部的淋巴结清扫干净. 若肿瘤的生长情况允许术者将植物神经保留, 则在肠系膜下动脉根部下1 cm的位置将其离断, 在操作的过程中应避免将动脉的神经丛损伤. 使用长臂钝头弯剪在骶尾骨与直肠之间的间隙中进行锐性分离, 于直肠后方的后方的脏层与壁层盆腔壁筋膜之间进行操作, 采用电凝对破裂的小血管进行止血, 并将疏松结缔组织游离, 操作过程中注意保护神经, 直至肛提肌. 继续采用长臂钝头弯剪分离精囊前列腺与直肠之间的间隙, 并将盆腔腹膜在直肠膀胱凹前1 cm剪开, 在精囊暴露后继续游离至前列腺的尖部. 在直肠前后壁得以游离后, 将直肠推向左侧, 并使用弯头剪刀靠近内侧盆壁, 靠近时剪刀与盆壁平行, 并将侧韧带向下推剪, 在推剪时适当提拉肠管, 使其处在一定的张力之下, 直至所需要切除的肠系膜. 推剪过程中避免钳夹或结扎等操作, 以降低植物神经的损伤. 在处理右侧直肠韧带时, 采用与上述操作相同的方法对其进行处理. 在游离肠管与系膜的过程中, 尽可能避免过度牵拉肠管与挤压病灶, 避免肿瘤发生破裂. 对照组: 采用常规的手术方式对直肠周围的系膜进行分离, 在分离过程中结扎出血点. 评价标准: 对比分析两组患者手术所用时间、术中出血, 手术过程中肠管破溃及尿道损伤的情况, 以及手术后盆腔感染的发生率及大体标本直肠周围系膜不完整的比例.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 两组数据间计量资料使用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 检验标准为0.05, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

■ 研究前沿

尤其是肥胖的男性患者, 由于其骨盆的空间相对女性患者而言更小, 手术过程中对于直肠韧带的暴露存在着一定的难度, 这对于全直肠系膜切除术的效果及手术难度产生了一定的影响.

■ 相关报道

美国的学者所进行的流行病学调查结果显示直肠癌患者的5年生存率由原先的60%不到在全系膜切除术后得以应用后提升到70%左右。

表 1 实验组与对照组一般情况的比较 ($n = 46$)

分组	年龄(岁)	体质量 指数(kg/m ²)	肿瘤大 小(cm)		TNM分期			肿瘤下缘距齿 状线距离(cm)		保留植 物神经	
			3.5-6	>6	T1-2N0M0	T3N0M0	T3N1-2M0	4.5-8.0	8.1-10	是	否
实验组	67.3 ± 3.1	27.4 ± 2.2	32	14	14	21	11	24	22	38	8
对照组	68.1 ± 4.5	27.9 ± 3.0	29	17	13	20	13	25	21	36	10
t/χ^2	0.993	0.912	0.438		0.228			0.044		0.276	
P 值	0.323	0.364	0.508		0.892			0.834		0.599	

表 2 实验组与对照组术中情况的比较 ($n = 46$)

分组	手术时间(min)	术中出血(mL)	肠管破裂n(%)	尿道损伤n(%)
实验组	67.2 ± 10.3	157.9 ± 26.2	0(0.0)	1(2.2)
对照组	124.8 ± 11.8	154.2 ± 27.4	7(15.2)	2(4.3)
t/χ^2	24.942	0.662	7.577	0.345
P 值	0.000	0.510	0.006	0.557

表 3 实验组与对照组术后情况比较 ($n = 46, n(\%)$)

分组	盆腔感染	大体标本直肠周围系膜不完整
实验组	1(2.2)	2(4.3)
对照组	8(17.4)	9(19.6)
χ^2	6.035	5.060
P 值	0.014	0.024

2 结果

2.1 实验组与对照组术中情况的比较 实验组手术时间、术中出血及术中肠管破裂率均明显少于对照组($P < 0.05$), 两组术中尿道损伤几率的差异比较无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.2 实验组与对照组术后情况比较 实验组术后盆腔感染及大体标本直肠周围系膜不完整的几率明显低于对照组($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

自20世纪80年代Heald提出全系膜切除术的概念以来, 经过20余年的发展, 全系膜切除术已经成为直肠癌治疗的“金标准”^[5]。美国的学者所进行的流行病学调查结果显示直肠癌患者的5年生存率由原先的60%不到在全系膜切除术后得以应用后提升到了70%左右^[6,7]。且盆腔内自主神经保护的技术使得手术的临床效果变得更佳, 保肛率得以升高, 肿瘤的局部复发率得以降低, 患者术后的泌尿生殖系统功能障碍情况也得到了明显的改善^[8]。

全系膜切除术是在直视下将潜在的系膜、淋巴及血管等组织沿着壁层盆腔筋膜完全切除, 但老年肥胖患者直肠系膜组织的脂肪层较一般患者更厚, 且骨盆内的空间较为狭小, 在直视下操作很难将肠系膜彻底切除^[9,10]。尤其是手术过程中肠壁侧韧带的处理方式, 在暴露直肠盆壁间隙时难度极大, 及时对肠管进行挤压及提拉的操作, 也很难获得较好的手术视野。以往所使用的方法为直视下锐性分离结扎, 但此种处理方式往往会损伤到肠壁的浆肌层, 受损肠管在受到牵拉后发生破裂的风险极高, 且不能保证系膜切除的完整性及其切缘横截面的平整^[11]。许多临床医师在处理直肠侧韧带时由于惧怕损伤重要的血管及输尿管而承担着巨大的压力, 手术过程中不仅要求获得良好的手术视野, 操作时常边切除边结扎^[12-14]。而此次研究中我们所使用的平行推剪技术无需对肠管进行用力的牵拉以获得理想的手术视野, 使用该种方法对直肠韧带处理后, 只需保证直肠处于一定的张力之下, 即可以用弯剪将筋膜推剪至尾骨尖部。直肠前部的处理也是在该处腹膜被剪开之后在进行, 侧韧带的游离也无需进行用力的提压, 只需要在肠管的位置偏离盆壁时用长臂弯剪顺着盆筋膜壁层的方向将其推剪至肛提肌。该项技术的操作是建立在盆筋膜脏壁层间的无血管平面之上的, 故在推剪的过程中无需缝扎止血, 只需要在离断肠管远端之后在将小的出血点止住。相比于传统的术式, 平行推剪技术秉承了手术

中的无瘤原则, 对于肿瘤不牵拉挤压, 并大大降低了盆筋膜破损的风险。对于肥胖的男性患者而言, 手术的难度也相应降低, 故手术时间也可以得到相应的缩短^[15]。本次研究中, 我们的结果显示实验组手术时间、术中出血及术中肠管破溃率均明显少于对照组($P<0.05$), 两组术中尿道损伤几率的差异比较无统计学意义($P>0.05$), 且由于发生肠管破溃的情况较为少见, 实验组术后盆腔感染及大体标本直肠周围系膜不完整的几率明显低于对照组($P<0.05$)。从理论的层面上来看, 该项技术还有效地保护了盆腔内的植物神经丛, 由于推剪时操作方向与盆内侧壁平行, 若肿瘤没有对盆壁或骶前进行浸润, 则操作过程中损伤神经丛的风险很低。

总之, 平行推剪韧带技术降低了老年肥胖男性直肠癌根治术的难度, 提高了手术的安全性, 故值得推广。

4 参考文献

- 张雷. 结直肠癌新辅助治疗进展. 重庆医学 2013; 42: 581-583
- 王刚成, 韩广森, 任莹坤, 徐勇超, 谢建国. 平行推剪直肠韧带技术在男性肥胖直肠癌根治术中的临床应用效果观察. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 367-369
- Kang J, Lee HB, Cha JH, Hur H, Min BS, Baik SH, Kim NK, Sohn SK, Lee KY. Feasibility and impact on surgical outcomes of modified double-stapling technique for patients undergoing laparoscopic anterior resection. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 771-775 [PMID: 23288715 DOI: 10.1007/s11605-012-2122-0]
- 张策, 丁自海, 李国新, 黄祥成, 钟世镇. 腹腔镜全直肠系膜切除术相关直肠周围筋膜和盆自主神经的活体解剖学观察. 广东医学 2012; 33: 2407-2410
- Kusunoki M, Inoue Y, Yanagi H. Simplification of total mesorectal excision with colonic J-pouch anal anastomosis for middle and lower rectal cancer: one surgeon's experience. *Surg Today* 2008; 38: 691-699 [PMID: 18668311 DOI: 10.1007/s00595-007-3699-x]
- 郭云. 进展期直肠癌全系膜切除的远期疗效分析. 重庆医学 2009; 38: 2048-2049
- 沙洪存, 洪晓明, 倪开元. 腹腔镜与开腹直肠癌全系膜切除术的对照研究. 中华普通外科杂志 2010; 25: 287-290
- 周振旭, 郑晓风, 宋华羽, 蒋飞照, 王哲近, 左志贵, 蔡华杰, 阮小蛟. 腹腔镜全直肠系膜切除术联合经肛门括约肌切除术治疗超低位直肠癌. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 440-442
- Atallah S, Nassif G, Polavarapu H, deBeche-Adams T, Ouyang J, Albert M, Larach S. Robotic-assisted transanal surgery for total mesorectal excision (RATS-TME): a description of a novel surgical approach with video demonstration. *Tech Coloproctol* 2013; 17: 441-447 [PMID: 23801366 DOI: 10.1007/s10151-013-1039-2]
- Inoue Y, Hiro J, Toiyama Y, Tanaka K, Uchida K, Miki C, Kusunoki M. Push-back technique facilitates ultra-low anterior resection without nerve injury in total mesorectal excision for rectal cancer. *Dig Surg* 2011; 28: 239-244 [PMID: 21625139 DOI: 10.1159/000328009]
- Hultman CS, Sherrill MA, Halvorson EG, Lee CN, Boggess JF, Meyers MO, Calvo BA, Kim HJ. Utility of the omentum in pelvic floor reconstruction following resection of anorectal malignancy: patient selection, technical caveats, and clinical outcomes. *Ann Plast Surg* 2010; 64: 559-562 [PMID: 20395804 DOI: 10.1097/SAP.0b013e3181ce3947]
- Gezen C, Altuntas YE, Kement M, Vural S, Civil O, Okkabaz N, Aksakal N, Oncel M. Complete versus partial mobilization of splenic flexure during laparoscopic low anterior resection for rectal tumors: a comparative study. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2012; 22: 392-396 [PMID: 22393925 DOI: 10.1089/lap.2011.0409]
- 高云峰, 董明. 直肠癌前切除术吻合口漏的危险因素. 世界华人消化杂志 2010; 18: 803-807
- 徐琨, 张宏, 冯勇, 从进春, 陈春生, 刘恩卿. 梗阻性左半结直肠癌术前支架减压与急诊手术248例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 736-740
- Kinugasa Y, Arakawa T, Abe S, Ohtsuka A, Suzuki D, Murakami G, Fujimiya M, Sugihara K. Anatomical reevaluation of the anococcygeal ligament and its surgical relevance. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 232-237 [PMID: 21228674 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318202388f]

■同行评价

本研究设计尚可, 结果可靠, 对临床医师有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



替加氟或氟尿嘧啶联合奥沙利铂对结直肠癌术后辅助化疗的疗效比较

李永亮, 刑珊珊, 罗以, 袁志军, 朱跃红, 吴尉

■背景资料

FOLFOX方案被推介为结直肠癌术后辅助治疗的标准方案, 有一定疗效, 但进一步提高疗效, 仍是目前研究的热点。

李永亮, 湖南省怀化市肿瘤医院肿瘤内科 湖南省怀化市418000

刑珊珊, 罗以, 袁志军, 朱跃红, 吴尉, 湖南省肿瘤医院老干内科 湖南省长沙市 410013

李永亮, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤化疗方面的研究。

作者贡献分布: 本课题由罗以设计; 研究过程由李永亮、刑珊珊、袁志军、朱跃红及吴尉操作完成; 数据整理、分析及论文写作由李永亮完成。

通讯作者: 罗以, 主任医师, 410013, 湖南省长沙市岳麓区咸嘉湖路582号, 湖南省肿瘤医院老干内科。luoyi702@163.com
电话: 0731-89762021

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-09-19

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-08

Effects of Tegafur or 5-fluorouracil combined with oxaliplatin in adjuvant chemotherapy of colorectal cancer

Yong-Liang Li, Shan-Shan Xing, Yi Luo, Zhi-Jun Yuan, Yue-Hong Zhu, Wei Wu

Yong-Liang Li, Department of Oncology, Huaihua Tumor Hospital, Huaihua 418000, Hunan Province, China
Shan-Shan Xing, Yi Luo, Zhi-Jun Yuan, Yue-Hong Zhu, Wei Wu, Department of VIP, Tumor Hospital of Hunan province, Changsha 410013, Hunan Province, China
Correspondence to: Yi Luo, Professor, Department of VIP, Tumor Hospital of Hunan Province, 582 Xianjiahu Road, Yuelu District, Changsha 410013, Hunan Province, China. luoyi702@163.com

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-09-19

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-08

Abstract

AIM: To compare the therapeutic effects and safety of Tegafur or 5-fluorouracil (5-FU) combined with oxaliplatin in adjuvant therapy of colorectal cancer.

METHODS: Clinical data for 51 patients who underwent adjuvant chemotherapy with Tegafur or 5-FU combined with oxaliplatin from January 2008 to December 2010 at Hunan Provincial Tumor Hospital were retrospectively analyzed.

RESULTS: The median disease-free survival was significantly longer in the Tegafur plus ox-

aliplatin group than in the 5-FU plus oxaliplatin group (36 mo vs 29 mo, $P < 0.05$). Major toxic reactions were nausea, vomiting, myelosuppression and peripheral neurotoxicity.

CONCLUSION: Tegafur can replace fluorouracil for adjuvant therapy of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oxaliplatin; Tegafur; Fluorouracil; Colorectal neoplasms; Chemotherapy

Li YL, Xing SS, Luo Y, Yuan ZJ, Zhu YH, Wu W. Effects of Tegafur or 5-fluorouracil combined with oxaliplatin in adjuvant chemotherapy of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3460-3463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3460.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3460>

摘要

目的: 评价国产奥沙利铂(Oxaliplatin, L-OHP)联合替加氟(Tegafur, FT-207)与奥沙利铂联合氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)对结直肠癌术后辅助治疗的近期疗效及不良反应。

方法: 对2008-01/2010-12在湖南省肿瘤医院分别接受FT-207联合L-OHP方案及5-FU、L-OHP方案化疗的51例患者的临床资料进行回顾性分析。

结果: FT-207联合L-OHP方案与5-FU联合L-OHP方案两组中位无病生存期分别为36 mo、29 mo, 两组比较差异有统计学意义。不良反应主要为轻中度的外周神经毒性、骨髓抑制和恶心呕吐。

结论: 替加氟可以替代氟尿嘧啶用于结直肠癌的术后辅助治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 奥沙利铂; 替加氟; 5-氟尿嘧啶; 结直肠癌; 化学治疗

■同行评议者

汤静, 主管药师, 上海交通大学附属第一人民医院药学部; 彭宗根, 研究员, 中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

核心提示: 本文通过评价国产奥沙利铂联合替加氟与奥沙利铂联合氟尿嘧啶对结直肠癌术后辅助治疗的近期疗效及不良反应, 试验结果有一定差异, 替加氟与氟尿嘧啶比较, 其在结直肠癌辅助治疗中有优势。

李永亮, 刑珊珊, 罗以, 袁志军, 朱跃红, 吴尉. 替加氟或氟尿嘧啶联合奥沙利铂对结直肠癌术后辅助化疗的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3460-3463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3460.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3460>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是目前最常见的恶性肿瘤之一, 全世界结直肠癌的发病率和死亡率居所有肿瘤的第3位^[1]. 我国结直肠癌患者每年新发约15万例, 死亡率超过7/10万, 且病死率仍有逐年上升趋势^[2], CRC发病年龄明显前移, 平均58岁, 比欧美等国家提前12-18岁^[3,4]. 目前对结直肠癌的治疗以手术为主, 术后对有高危因素的II期及III期结直肠癌患者行辅助化疗以减少复发率, 延长生存时间^[5]. 专家组推介氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)+亚叶酸钙(calcium folinate, CF)+奥沙利铂(Oxaliplatin, L-OHP)联合的方案作为结直肠癌术后辅助化疗的标准方案. 此方案较为安全可靠, 但在疗效上仍有不尽人意的地方. 积极寻找有效、低毒的新型药物已受到广大研究者的普遍重视. 我们尝试用替加氟(Tegafur, FT-207)代替5-FU进行辅助化疗的研究, 对2008-01/2010-12在湖南省肿瘤医院治疗的51例结直肠癌进行FT-207或5-FU联合L-OHP的化疗方案治疗的疗效及不良反应进行比较观察, 结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2008-01/2010-12湖南省肿瘤医院收治的, 经病理学检查并结合临床、影像学等确诊, 接受根治手术的结直肠癌的患者, 近1 mo内未接受过化疗, Karnofsky评分>70分; 治疗前血常规、肝肾功能、心电图正常, 无化疗禁忌症, 共51例. 分为A、B两组. A组26例: 男19例, 女7例; 年龄20-63岁, 中位年龄51岁; 高分化腺癌3例, 中分化腺癌15例, 低分化腺癌6例, 黏液腺癌2例; III期18例, II期8例. B组25例: 男19例, 女6例; 年龄31-66岁, 中位年龄47岁; 高分化腺癌2例, 中分化腺癌15例, 低分化腺癌5例, 黏液腺癌3例; III

期18例, II期7例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: A组: L-OHP(江苏恒瑞医药股份有限公司)85 mg/m², 2 h静脉滴入, d1; CF 400 mg/m², 2 h静滴, d1; FT-207(方克, 齐鲁制药有限公司)400 mg/m²静脉推注d1, 续以FT-207 2400/m²微量注射静脉泵静脉滴入46 h, 2 wk重复, 共4周期. B组: L-OHP 85 mg/m², 2 h静滴, d1; CF 400 mg/m², 2 h静滴, d1; 5-FU(天津金耀氨基酸有限公司)400 mg/m²静脉推注d1, 续以5-FU 2400 mg/m²微量注射静脉泵静脉滴入46 h, 2 wk重复, 共4周期. 化疗过程中常规使用止吐剂盐酸昂丹司琼8 mg, 2次/d, 入小壶; 同时配合护肝治疗. 化疗期间忌食冷饮, 禁用冷水和接触冰冷物体. 所有病例完成≥2个化疗周期后评价疗效, 化疗中、化疗后记录不良反应.

1.2.2 观察指标: 无疾病生存期(disease-free survival, DFS)为治疗开始至疾病复发或由于疾病进展导致患者死亡的时间. 不良反应评价按照WHO抗癌药物不良反应分为0-IV度. 观察指标: 每次化疗前后复查血常规、肝肾功能、心电图. 完成2周期化疗后全面复查影像学, 对肿瘤病灶进行评价, 观察近期疗效和不良反应.

1.2.3 随访: 经门诊复查或电话对患者进行随访, 随访时间为36-61 mo, 中位随访时间为41 mo, 无失访患者.

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析, 率的比较采用 χ^2 检验, 采用Kaplan-Meier方法进行生存分析, 其差异应用Log-rank检验. $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 疗效观察 全组病例至2013-03随访结束, A组: 其中11例无病生存, 26例患者DFS 8-61 mo; B组: 其中6例无病生存, 25例患者DFS 8-52 mo. A、B两组中位DFS分别为36 mo和29 mo, 1年DFS分别为92.3%(24/26)和88.0%(22/25); 2年DFS分别为76.9%(20/26)和64%(16/25); 3年DFS分别为53.8%(14/26)和16%(4/25). 两组发生率比较, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图1).

2.2 不良反应发生情况比较 全部51例患者均可评价不良反应, 两组患者的主要不良反应为胃肠道反应、周围神经毒性和骨髓抑制, 且多为I-II度. A组和B组, 白细胞下降以I-II度为主, 分别为69.2%、92%, III、IV度粒细胞下降的发

■ 研发前沿

目前结直肠癌术后辅助化疗的标准方案的疗效有限, 探索高效、低毒的新型疗法及化疗组合仍需研究.

■相关报道

国际多中心的MOSAIC试验,报道了氟尿嘧啶、亚叶酸钙联合奥沙利铂在结直肠癌辅助化疗的积极疗效, NSABP C-07研究起到很好的验证效果。

表 1 FT-207+L-OHP组和5-FU+L-OHP组的不良反应比较 (%)

不良反应	FT-207+L-OHP组					5-FU+L-OHP组					P值
	0度	I度	II度	III度	IV度	0度	I度	II度	III度	IV度	
白细胞下降	8	7	10	1	0	2	8	13	2	0	<0.05
贫血	19	5	1	1	0	16	6	2	0	1	>0.05
血小板减少	17	4	3	2	0	17	3	4	1	0	>0.05
腹泻	21	3	0	2	0	19	2	1	3	0	>0.05
恶心呕吐	6	9	9	1	1	6	5	12	2	0	>0.05
周围神经毒性	15	6	5	0	0	16	5	4	0	0	>0.05
丙氨酸氨基转移酶升高	19	5	2	0	0	18	4	3	0	0	>0.05

FT-207: 替加氟-207; L-OHP: 奥沙利铂; 5-FU: 5-氟尿嘧啶。

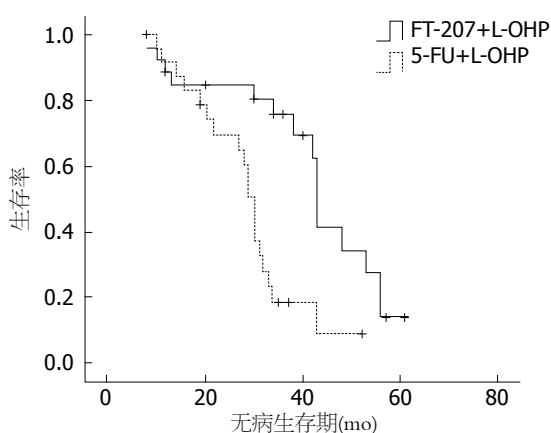


图 1 FT-207+L-OHP组和5-FU+L-OHP组患者的无病生存期曲线, FT-207: 替加氟-207; L-OHP: 奥沙利铂; 5-FU: 5-氟尿嘧啶。

生率分别为3.8%和8%, 两组比较有统计学意义($P<0.05$)。III、IV度腹泻的发生率分别为7.7%和12%, 两组皆无III、IV度周围神经毒性病例发生, 差异无统计学意义($P>0.05$, 表1)。其他不良反应, 如肝功能损害、恶心呕吐、贫血、血小板减少等, 两组发生率比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$, 表1)。

3 讨论

结直肠癌是我国常见恶性肿瘤之一, 近年来发病率和死亡率有逐年上升的趋势。美国NCCN指南将奥沙利铂、亚叶酸钙和氟尿嘧啶持续静脉注射联合方案作为结直肠癌术后辅助化疗推介方案之一^[6,7]。奥沙利铂是第三代铂类药物, 通过产生烷化结合物作用于DNA, 形成链内和链间交联, 从而抑制DNA的合成及抑制^[8]。5-FU是一种嘧啶类抗癌药物, 对消化系统肿瘤及其他实体肿瘤有良好的疗效。体内及体外的临床研究表明, 奥沙利铂与5-FU有明显的协同作用^[9], 而CF

生化调节可使5-FU增效。但5-FU半衰期只有10 min左右, 其极易被正常器官和肿瘤组织产生的二氢嘧啶脱氢酶快速降解(达85%以上)而失活^[10]。并且, 5-FU作为细胞周期特异性药物, 有显著的时间依赖性特点, 故需长期持续输注, 使之不断作用于癌细胞的S期, 以增强抑制作用, 但结果往往还是不如人意。

替加氟为氟尿嘧啶的衍生物, 在体内经肝脏活化逐渐转变为氟尿嘧啶, 能干扰和阻断DNA、RNA及蛋白质合成, 从而达到抑制肿瘤的效果。替加氟主要作用于S期, 是抗嘧啶类的细胞周期特异性药物, 其作用机制、疗效及抗癌谱与氟尿嘧啶相似, 但作用更持久, 毒性更低-半衰期为5 h, 血药浓度高于5-FU, 药效更为稳定; 化疗指数为5-FU的2倍, 毒性仅为5-FU的1/7-1/4, 在慢性毒性实验中未见严重的骨髓抑制, 对免疫的影响较为轻微^[11]。Bajetta等^[12]报道替加氟联合奥沙利铂治疗结直肠癌联合用药的有效率为38.9%。Hsiao等^[13]报道替加氟联合奥沙利铂治疗转移性结直肠癌的肿瘤控制率接近64%。

从图1可以看出, A、B两组中位无病生存时间分别为36 mo和29 mo, 1年DFS分别为92.3%(24/26)和88.0%(22/25); 2年DFS分别为76.9%(20/26)和64%(16/25); 3年DFS分别为53.8%(14/26)和16%(4/25), 两组发生率比较, 差异有统计学意义。

从表1可以看出, 本文A组与B组方案的主要不良反应中, 白细胞下降以I-II度为主, 分别为69.2%、92%, 两组比较有统计学意义($P<0.05$), 提示替加氟联合奥沙利铂与氟尿嘧啶联合奥沙利铂比较, 前者的白细胞下降程度要轻; 贫血、血小板降低、神经毒性; 消化系反应及肝毒性

等方面, 两组比较无统计学意义($P>0.05$), 提示两组间相关毒性无明显差别。

总之, 替加氟联合奥沙利铂方案对结直肠癌术后辅助治疗的疗效优于氟尿嘧啶与奥沙利铂联合的方案; 替加氟为主的联合化疗方案与氟尿嘧啶联合奥沙利铂方案不良反应比较, 替加氟组的白细胞下降较氟尿嘧啶组有优势; 其他方面不良反应比较, 两组无明显差别。故此, 替加氟联合奥沙利铂方案化疗可考虑作为结直肠癌术后辅助治疗一线方案。甚至我们认为, 替加氟可以替代氟尿嘧啶用于结直肠癌的术后辅助治疗。

当然, 因本研究为回顾性研究, 入选病例数相对较少, 可能存在某些偏差。如本研究中氟尿嘧啶组的3年DFS仅16%, 低于MOSAIC试验^[14]及NSABP C-07研究^[15]报道结果, 考虑可能与化疗周期不足及入组病例较少造成抽样误差有关。替加氟用于结直肠癌的术后辅助治疗, 其远期疗效及不良反应, 尚需要进一步的随机大样本前瞻性研究验证。

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 2 董志伟, 乔友林, 李连弟, 王国清, 张思维, 孟祥柱, 李纪宾. 中国癌症高发发现场报告. *中国肿瘤* 2009; 18: 4-9
- 3 蔡善荣, 郑树, 张苏展. 不同年龄组大肠癌预后多因素分析的比较. *中华肿瘤杂志* 2005; 27: 483-486
- 4 王锡山. 结直肠癌综合治疗的规范化实施. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 260-264
- 5 Grávalos C, García-Escobar I, García-Alfonso P, Cassinello J, Malón D, Carrato A. Adjuvant chemotherapy for stages II, III and IV of colon cancer. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 526-533 [PMID: 19661027 DOI: 10.1007/s12094-009-0397-8]
- 6 Engstrom PF, Arnoletti JP, Benson AB, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, Covey A, Dilawari RA, Early DS, Enzinger PC, Fakih MG, Fleshman J, Fuchs C, Grem JL, Kiel K, Knol JA, Leong LA, Lin E, Mulcahy MF, Rao S, Ryan DP, Saltz L, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous C, Thomas J, Venook AP, Willett C. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: colon cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 7: 778-831 [PMID: 19755046]
- 7 Engstrom PF, Arnoletti JP, Benson AB, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, Covey A, Dilawari RA, Early DS, Enzinger PC, Fakih MG, Fleshman J, Fuchs C, Grem JL, Kiel K, Knol JA, Leong LA, Lin E, Mulcahy MF, Rao S, Ryan DP, Saltz L, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous C, Thomas J, Venook AP, Willett C. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 7: 838-881 [PMID: 19755047]
- 8 周际昌. 实用肿瘤内科治疗. 第一版. 北京: 北京科学技术出版社, 2010: 102
- 9 孙燕. 内科肿瘤学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 593-594, 385-409
- 10 Malet-Martino M, Martino R. Clinical studies of three oral prodrugs of 5-fluorouracil (capecitabine, UFT, S-1): a review. *Oncologist* 2002; 7: 288-323 [PMID: 12185293 DOI: 10.1634/theoncologist.7.4-288]
- 11 周际昌, 谢惠民. 新编抗肿瘤药物临床治疗手册. 第一版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2005: 36-37
- 12 Bajetta E, Di Bartolomeo M, Buzzoni R, Mariani L, Zilembo N, Ferrario E, Lo Vullo S, Aitini E, Isa L, Barone C, Jacobelli S, Recaldin E, Pinotti G, Iop A. Uracil/ftorafur/leucovorin combined with irinotecan (TEGAFIRI) or oxaliplatin (TEGAFOX) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer patients: results of randomised phase II study. *Br J Cancer* 2007; 96: 439-444 [PMID: 17245343 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603493]
- 13 Hsiao SC, Lin JF, Chuang MT, Lee YA, Wu DL. Retrospectively comparative evaluation of the first- and second-line chemotherapy with campto and oxaliplatin combined with oral tegafur/uracil (UFT)/leucovorin (LV) in patients with metastatic colorectal cancer. *Int Surg* 2009; 94: 298-303 [PMID: 20302025]
- 14 André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, Zaninelli M, Clingan P, Bridgewater J, Tabah-Fisch I, de Gramont A. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2343-2351 [PMID: 15175436 DOI: 10.1056/NEJMoa032709]
- 15 Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, Smith RE, Colangelo LH, Yothers G, Petrelli NJ, Findlay MP, Seay TE, Atkins JN, Zapas JL, Goodwin JW, Fehrenbacher L, Ramanathan RK, Conley BA, Flynn PJ, Soori G, Colman LK, Levine EA, Lanier KS, Wolmark N. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2198-2204 [PMID: 17470851 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.2974]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文通过评价国产奥沙利铂(L-OHP)联合替加氟(FT-207)与奥沙利铂联合氟尿嘧啶(5-FU)对结直肠癌术后辅助治疗的近期疗效及不良反应, 以分析疗法的优势, 实验结果显示两组疗效和不良反应有一定的差异, 结果对目前临床有一定的治疗指导作用。



具有克罗恩病家族史的淋巴瘤患者误诊1例

刘维新, 张 绅, 任 益

■背景资料

1例具有克罗恩家族史的淋巴瘤患者, 由于临床表现及肠镜病理结果不具特异性, 出现误诊。最终行肠壁穿刺取病理, 确诊为淋巴瘤。

刘维新, 张绅, 任益, 中国医科大学附属第一医院消化内科
辽宁省沈阳市 110001

刘维新, 副教授, 主要从事炎症性肠病方面的研究。

作者贡献分布: 论文写作由刘维新与张绅完成; 图像采集由任益完成。

通讯作者: 刘维新, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区北二马路92号, 中国医科大学附属第一医院消化内科。

weixinliu@yahoo.com

电话: 024-8328-2563

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-08-15

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-11-08

Lymphoma misdiagnosed as Crohn's disease in a patient with a family history of Crohn's disease

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Yi Ren

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Yi Ren, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Wei-Xin Liu, Associate Professor, the First Hospital of China Medical University, 92 Beier Malu,, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. weixinliu@yahoo.com

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-08-15

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-11-08

Abstract

Gastrointestinal lymphomas can be easily misdiagnosed due to the lack of specific clinical manifestations and accessory examinations that can differentiate them from other diseases. Here we report a case of gastrointestinal lymphoma that was misdiagnosed as Crohn's disease in a patient with a family history of Crohn's disease. He was finally diagnosed with lymphoma by ultrasound-guided biopsy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Family history; Crohn's disease; Lymphoma; Misdiagnosis

Liu WX, Zhang S, Ren Y. Lymphoma misdiagnosed as Crohn's disease in a patient with a family history of Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3464-3466
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3464.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3464>

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

摘要

胃肠道淋巴瘤的临床表现缺乏特异性, 其辅助检查结果不易与其他疾病区分, 临床较易误诊。本例患者具有克罗恩病家族史, 曾被误诊为克罗恩病, 最终行B超下肠壁穿刺活检确诊为淋巴瘤。临床工作中对于疾病诊断应寻找更多的证据以明确诊断。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 克罗恩病家族史; 淋巴瘤; 误诊

核心提示: 我们在对疾病的诊断过程中, 应关注患者的治疗效果, 搜集更多诊断依据, 以使患者得到及早、确切的治疗。

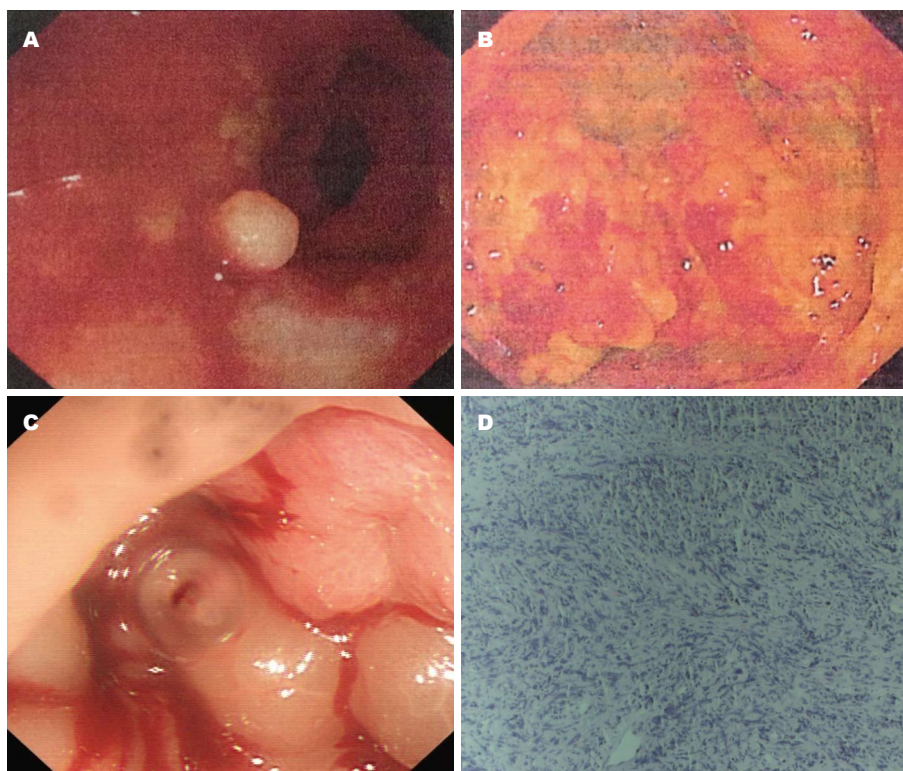
刘维新, 张绅, 任益. 具有克罗恩病家族史的淋巴瘤患者误诊1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3464-3466 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3464>

0 引言

胃肠道是结外淋巴瘤的最好发部位, 胃肠道淋巴瘤的临床表现主要为腹痛, 腹部包块, 体质量减轻。内镜下可见黏膜皱襞增厚, 不规则隆起、糜烂及溃疡。由于其临床表现缺乏特异性, X线钡餐及内镜下表现与胃溃疡、肠结核、炎症性肠病相似, 故临床较易误诊^[1]。现将1例具有克罗恩病家族史的淋巴瘤患者误诊病例报告如下。

1 病例报告

患者, 男性, 53岁, 因“右上腹疼痛9 mo, 加重半个月”于2013-01入院, 患者入院前9 mo无明显诱因出现右上腹隐痛, 呈间断性, 无放散, 与进食、活动无关, 未予在意及特殊诊治。后便血1次, 为鲜红色, 量约500 mL, 伴头晕、黑矇, 不伴腹痛、反酸、烧心及呕血。在我院门诊就诊, 行肠镜检查示回盲部见一巨大溃疡性病变, 占1/2肠腔, 底不平, 少量白苔, 周围黏膜充血水肿, 蠕动差, 回盲瓣长开, 变形, 末端回肠狭窄(图1A)。检查诊断为“克罗恩病”, 予以口服美沙拉秦



同行评价

本文报道了1例具有克罗恩病家族史的患者患淋巴瘤的临床报道, 临床资料丰富且详实。

图1 患者行肠镜检查及肠壁免疫组织化学结果。A: 肠镜检查回盲瓣长开、变形, 末端回肠狭窄; B: 复查肠镜盲部见环周不规则增生, 表面溃疡, 回盲瓣无法辨认; C: 肠镜显示少量腺体轻度异型增生, 淋巴组织异型增生, 炎细胞浸润; D: 肠壁免疫组织化学结果($\times 40$)。

治疗。本次入院前3 mo复查肠镜示: 回盲部见环周不规则增生, 表面溃疡, 回盲瓣无法辨认(图1B)。病理示: 溃疡, 肉芽组织增生, 伴少量多核巨细胞, 腺体略大小不等, 杯细胞减少, 病理诊断为“克罗恩病”, 后一直服用美沙拉秦及沙利度胺治疗。入院前半个月腹痛加重, 进食后尤为明显, 右上腹可触及包块, 为行进一步治疗来我院住院。既往否认高血压、冠心病、糖尿病等慢性病史。其妹患克罗恩病多年, 一直服用美沙拉秦, 疾病处于缓解期。查体神志清楚, 发育正常, 营养中等, 贫血貌, 巩膜无黄染, 周身皮肤黏膜无出血点及瘀斑, 未见肝掌及蜘蛛痣, 齿龈无肿胀, 浅表淋巴结未触及。腹平坦, 腹型对称, 未见胃肠型, 未见腹壁静脉曲张, 肝脾肋下未触及, 右上腹包块, 质中等, 边界不清, 大小约12 cm \times 10 cm, 活动度较差, 压痛明显。无肌紧张及反跳痛。Murphy's征(-), 肝脾区无叩击痛, 动性浊音(-)。肠鸣音3-4次/分, 未闻及气过水声及高调肠鸣音, 双下肢无浮肿。初步诊断克罗恩病可能性较大。入院后行相关检查, 血细胞分析: WBC $6.34 \times 10^9/L$, Hb 66 g/L, PLT $408 \times 10^9/L$; 凝血三项: 正常; 肝功: 酶学正常, TP 55.6 g/L, ALB 34.2 g/L; 肾功、离子: 正常; 尿便常规正常; 肿瘤标

志物正常; PPD试验(阴性)。胸片未见明显异常。全腹增强CT示右腹部小肠及结肠肝曲改变, 炎性病变可能大。腹、盆腔少量积液。后行肠镜, 病理结果回报结肠肝曲病理, 镜下表现溃疡, 少量腺体轻度异型增生, 淋巴组织异型增生, 炎细胞浸润(图1C)。由于病理结果仍不能确诊为肠淋巴瘤或克罗恩病, 再次行肠镜取病理, 提示升结肠溃疡伴淋巴组织轻度异型增生。患者因多次肠镜检查及病理均不能确诊, 后行B超下肠壁穿刺活检, 病理回报免疫组织化学结果示CK(-), CD3(散在+), CD20(弥漫+), CD68(+), PAX-5(+), CD10(-), MUM1(+), Bcl-6(+), Ki67(+) 75%; 病理诊断: (肠壁)免疫组织化学结果支持弥漫大B细胞淋巴瘤(活化B细胞性)(图1D)。遂转入肿瘤内科予以CHOP方案抗肿瘤治疗及水化碱化尿液、抗炎等对症治疗。化疗过程较顺利, 患者无明显不适, 后出院。

2 讨论

该患者有克罗恩病家族史, 有腹痛、腹泻、消化系出血病史, 前两次肠镜均提示结肠溃疡性病变, 病理提示肉芽肿性病变, 诊断克罗恩病, 经美沙拉秦及沙利度胺治疗, 症状有所减轻,

但结肠壁逐渐增厚,右上腹逐渐出现包块、消瘦、贫血,临床上曾怀疑克罗恩病诊断的正确性,但几次肠镜及病理均不能确诊,最后于B超下行肠壁穿刺,并行病理及免疫组织化学检查,明确诊断为弥漫大B细胞淋巴瘤(活化B细胞性)。

在该病诊治中,由于淋巴瘤与克罗恩病早期临床表现无特异性,确诊主要靠组织病理学,病程早期容易误诊,该患有右上腹痛、便血、腹部包块的表现,且肠镜所见及病理结果不典型,较难与克罗恩病鉴别^[2]。我们不能把肠镜下取病理的手段作为唯一的手段,必要时可行B超或CT下穿刺取病理并行免疫组织化学对及时确诊有重要意义^[3,4]。

患者无职业接触史、无EB病毒及艾滋病病毒接触史等淋巴瘤发病诱因,有克罗恩病家族史,其姐患克罗恩病多年,服用美沙拉秦缓释颗粒缓解,开始时内镜下表现及病理均提示克罗恩病,经美沙拉秦治疗有效,这让我们感到疑惑,到底开始我们诊断克罗恩病是错误的,还是克罗恩病转换为淋巴瘤,亦或克罗恩病与淋巴瘤双病并存。据以往报道克罗恩病与淋巴瘤可双病并存,但多数病例是先有克罗恩病,后经用免疫抑制剂或肿瘤坏死因子- α 单抗后出现,本例患者只应用过沙利度胺口服,而沙利度胺具有治疗淋巴瘤的作用,所以应该不是沙利度胺对淋巴瘤的发病起到推波助澜的作用^[5-7]。因本病病史短,病情发展迅速,更可能是克罗恩病的诊断不确切,而开始时就是淋巴瘤,只不过病理没有取到,亦可能没有行免疫组织化学进一步确诊,

这提示我们在临床上不能满足于一次、两次肠镜及病理对克罗恩病的诊断,如果临床上对克罗恩病的治疗疗效不佳,我们应寻找更多的支持或否定克罗恩病的证据,这样不仅避免了临床医生误诊误治,还会使患者得到及早、确切的治疗^[8]。

3 参考文献

- 1 Nakamura S, Matsumoto T, Iida M, Yao T, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal lymphoma in Japan: a clinicopathologic analysis of 455 patients with special reference to its time trends. *Cancer* 2003; 97: 2462-2473 [PMID: 12733145]
- 2 楼方定. 粘膜相关淋巴组织淋巴瘤. 中国实用内科杂志 2001; 21: 333-335
- 3 张祖蓉, 周正贤, 吴万梅, 杨玉波. 胃肠道粘膜相关淋巴组织淋巴瘤. 四川肿瘤防治 2005; 18: 60-62
- 4 安泽武, 马富, 张志明, 宋少柏. 胃粘膜相关淋巴组织淋巴瘤的误诊分析. 中华普通外科杂志 2002; 17: 459-460
- 5 Perosio PM, Brooks JJ, Saul SH, Haller DG. Primary intestinal lymphoma in Crohn's disease: minute tumor with a fatal outcome. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 894-898 [PMID: 1615947]
- 6 Yeboah J, Sharma OP. Co-existence of Crohn's disease, sarcoidosis and malignant lymphomas. *JRSM Short Rep* 2012; 3: 10 [PMID: 22393471 DOI: 10.1258/shorts.2011.011133]
- 7 Loftus EV, Tremaine WJ, Habermann TM, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Risk of lymphoma in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2308-2312 [PMID: 11007233 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02316.x]
- 8 Hashash JG, Abo S, Regueiro M. An unusual cause of lower gastrointestinal bleeding in Crohn's disease. Malignant infiltration with Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Gastroenterology* 2012; 142: 1421, 1623 [PMID: 22543110 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.008]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白浪 副教授
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈亚军 教授
首都医科大学附属北京儿童医院普外科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

方今女 教授
延边大学医学院预防医学教研部

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

高泽立 副教授
上海交大医学院九院周浦分院

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

顾岩 教授
上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李小荣 教授
中南大学湘雅三医院普外二科

林潮双 副教授
中山大学附属第三医院感染科

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所; 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

龙学颖 副主任医师
中南大学湘雅医院

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙学英 教授
哈尔滨医科大学第一附属医院

王学美 研究员
北京大学第一医院中西医结合研究室

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

张火俊 副教授
长海医院放射科

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

庄林 主任医师
昆明市第三人民医院肝病科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

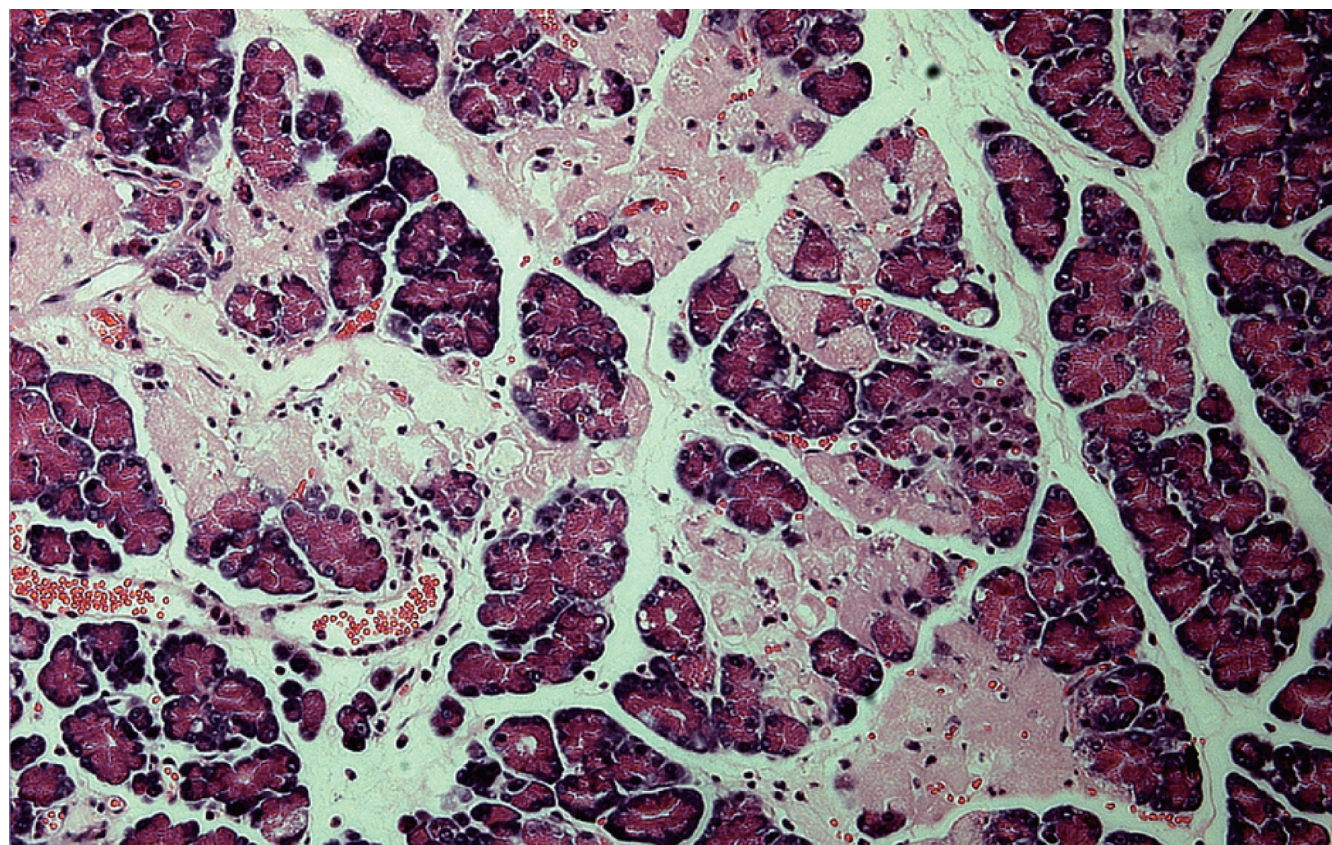


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 11 月 18 日 第 21 卷 第 32 期 (Volume 21 Number 32)



32/2013

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 11 月 18 日 第 21 卷 第 32 期 (总第436期)

述 评	3467 进一步提高经腹超声评估炎症性肠病的水平 刘畅, 徐辉雄
临 床 研 究	3473 AIH与AIH-PBC重叠综合征的临床和病理特征 谢月萍, 李刚平, 郭晖, 杨玲, 宋宇虎, 叶进 3479 3D技术指导下个体化肝静脉分型及其在肝脏肿瘤切除中的应用 陈铁军, 唐云强, 唐辉, 江鹏 3486 溃疡性结肠炎患者的生存质量分析176例 李孝镇, 唐志鹏, 谢建群
文 献 综 述	3493 白介素-1B基因多态性与胃癌易感性关系的研究进展 王乾, 璐坚 3499 肝纤维化中表观遗传学调控的研究进展 李曼蓉, 陆伦根, 卜平 3505 自身免疫性胰腺炎的研究进展 黄颖秋 3514 炎症性肠病生物治疗的进展 牛小娟, 许静涌, 宋京海 3520 重视腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值 翟荣林, 龙跃平, 王国斌 3526 HMGB1/TLR信号通路在 <i>H. pylori</i> 感染中作用的研究进展 王福财, 谢勇
研 究 快 报	3532 靶向沉默caveolin-1基因对胃癌耐药细胞增殖和迁移影响 张晔, 曲秀娟, 刘云鹏, 徐玲, 赵明芳, 侯科佐, 滕月娥 3537 重症急性胰腺炎肠道屏障损伤时sPLA ₂ 的表达及清胰汤的影响 张经文, 陈海龙, 王玉玺, 王超 3543 金荞麦片对脾虚湿热证腹泻型肠易激综合征大鼠免疫炎症和内脏高敏感性的影响 牛晓玲, 周英豪, 孙书焰, 庄璘
临 床 经 验	3550 三维多普勒超声评价食管静脉曲张套扎术对胃左静脉血流动力学的影响 崔星亮, 路新卿, 王建华, 刘晓东, 施海法, 燕霞, 王瑞平 3556 PDCA循环模式对急诊胃镜患者焦虑情绪的影响 章海华, 王珠美, 盛俊霞, 赵萌秋 3561 平顶山市矿区非酒精性脂肪肝的患病率及危险因素 王宏伟, 曹丽丽, 胡寒冰, 樊全治, 高鸿亮 3566 肝恶性肿瘤行规则性肝切除术与不规则肝切除术的相关因素比较 寇昌华, 钱海鑫, 赵子明 3571 早期内镜下逆行胆胰管造影治疗急性胆源性胰腺炎的安全性和有效性评价 崔建华, 徐康, 赵昌杰, 陈林 3576 结肠憩室病的临床及X线分析31例 莫洪波 3580 芍药安肠汤治疗活动期溃疡性结肠炎疗效及其对TNF- α 、IL-17及IL-21水平的影响 李晨, 范尧夫, 刘皓, 张前德 3585 粪便中基因甲基化检测筛查结直肠癌的荟萃分析 陆宏娜, 张谢, 王丹萍, 董显文, 黄志刚 3592 miR-320在结直肠癌中的表达及意义 张丹华, 董明, 周建平 3598 系统性护理干预对直肠癌术后化疗患者癌因性疲乏的影响 宋春艳 3602 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价 何继东, 王一平, 张兰, 杨秀蓉

病例报告	3608 超声内镜确诊胰岛细胞瘤2例 齐鑫, 刘敬军
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3492 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3498 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3513 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3525 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3531 《世界华人消化杂志》修回稿须知 3555 《世界华人消化杂志》出版流程 3570 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3575 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3601 《世界华人消化杂志》正文要求 3607 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	张经文, 陈海龙, 王玉玺, 王超. 重症急性胰腺炎肠道屏障损伤时sPLA ₂ 的表达及清胰汤的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3537-3542 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3537.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3537
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-11-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

November 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 32

EDITORIAL	3467 Transabdominal ultrasound for diagnosis of inflammatory bowel disease <i>Liu C, Xu HX</i>
CLINICAL RESEARCH	3473 Clinical and pathological features of AIH versus AIH-PBC overlap syndrome <i>Xie YP, Li GP, Guo H, Yang L, Song YH, Ye J</i> 3479 3D imaging-guided individualized hepatic vein typing: Application to liver tumor resection <i>Chen TJ, Tang YQ, Tang H, Jiang P</i> 3486 Analysis of quality of life in 176 patients with ulcerative colitis <i>Li XZ, Tang ZP, Xie JQ</i>
REVIEW	3493 Progress in understanding the association between interleukin-1B gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer <i>Wang Q, Ju J</i> 3499 Advances in research of epigenetic regulation in liver fibrosis <i>Li MR, Lu LG, Bu P</i> 3505 Current status of research on autoimmune pancreatitis <i>Huang YQ</i> 3514 Biological therapies for inflammatory bowel diseases <i>Niu XJ, Xu JY, Song JH</i> 3520 Clinical value of CT in early diagnosis and treatment of acute abdomen <i>Zhai RL, Long YP, Wang GB</i> 3526 Role of HMGB1/TLR signaling pathway in <i>Helicobacter pylori</i> infection <i>Wang FC, Xie Y</i>
RAPID COMMUNICATION	3532 Silencing of the caveolin-1 gene inhibits proliferation and migration of multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells <i>Zhang Y, Qu XJ, Liu YP, Xu L, Zhao MF, Hou KZ, Teng YE</i> 3537 Expression of sPLA ₂ in intestine barrier injury in rats with severe acute pancreatitis: Implications for therapeutic effect of Qingyitang <i>Zhang JW, Chen HL, Wang YX, Wang C</i> 3543 Influence of Fagopyrum cymosum tablets on immune inflammation and visceral hypersensitivity in a rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome <i>Niu XL, Zhou YH, Sun SY, Zhuang L</i>
CLINICAL PRACTICE	3550 Three-dimensional Doppler ultrasonographic evaluation of hemodynamic changes in the left gastric vein of patients after esophageal variceal ligation <i>Cui XL, Lu XQ, Wang JH, Liu XD, Shi HF, Yan X, Wang RP</i> 3556 Effect of Plan-Do-Check-Act cycle in relieving anxiety in patients undergoing emergency gastroscopy <i>Zhang HH, Wang ZM, Sheng JX, Zhao MQ</i> 3561 Prevalence and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease in the mining area of Pingdingshan city <i>Wang HW, Cao LL, Hu HB, Fan QZ, Gao HL</i> 3566 Regular versus irregular liver resection for malignant tumors of the liver <i>Kou CH, Qian HX, Zhao ZM</i> 3571 Safety and efficacy of early endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of acute biliary pancreatitis <i>Cui JH, Xu K, Zhao CJ, Chen L</i> 3576 Clinical and X-ray features of diverticulosis of the colon: Analysis of 31 cases <i>Mo HB</i> 3580 Therapeutic effect of Shaohuang Anchang decoction on active ulcerative colitis and serum levels of TNF- α , IL-17 and IL-21 <i>Li C, Fan YF, Liu H, Zhang QD</i> 3585 Detection of fecal DNA methylation for colorectal neoplasia screening: A meta-analysis <i>Lu HN, Zhang X, Wang DP, Dong XW, Huang ZG</i> 3592 Dysregulation of microRNA-320 expression in colorectal cancer <i>Zhang DH, Dong M, Zhou JP</i>

	3598 Systemic nursing intervention relieves chemotherapy-related fatigue in patients with colon cancer <i>Song CY</i> 3602 Effect of mosapride on capsule endoscopy: A systematic review of randomized controlled trials <i>He JD, Wang YP, Zhang L, Yang XR</i>
CASE REPORT	3608 Two cases of insulinoma diagnosed by endoscopic ultrasonography <i>Qi X, Liu JJ</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Zhang JW, Chen HL, Wang YX, Wang C.</i> Expression of sPLA ₂ in intestine barrier injury in rats with severe acute pancreatitis: Implications for therapeutic effect of Qingyitang. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(32): 3537-3542 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3537.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3537
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date November 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

进一步提高经腹超声评估炎症性肠病的水平

刘畅, 徐辉雄

刘畅, 徐辉雄, 同济大学附属第十人民医院超声医学科 上海市 200072

徐辉雄, 教授, 主任医师, 主要从事超声造影、超声介入和三维超声的研究。

上海市卫生局重点基金资助项目, No. 20114003

上海市人才发展基金资助项目, No. 2012045

教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No.

NCET-06-0723

作者贡献分布: 本文由刘畅撰写; 徐辉雄负责审核。

通讯作者: 徐辉雄, 教授, 主任医师, 博士生导师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院超声医学科。
xuhuixiong@hotmail.com

电话: 021-6630753

收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Transabdominal ultrasound for diagnosis of inflammatory bowel disease

Chang Liu, Hui-Xiong Xu

Chang Liu, Hui-Xiong Xu, Department of Medical Ultrasound, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: the Key Project of Shanghai Health Bureau, No. 20114003; the Shanghai Talent Development Project of Shanghai Human Resource and Social Security Bureau, No. 2012045; and the Program for New Century Excellent Talents in University, No. NCET-06-0723

Correspondence to: Hui-Xiong Xu, Professor, Chief Physician, Department of Medical Ultrasound, Tenth People's Hospital of Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. xuhuixiong@hotmail.com

Received: 2013-06-20 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic inflammatory disease, including Crohn's disease and ulcerative colitis. Patients with IBD need life-time treatment because the disease is characterized by alternating periods of remission and exacerbation. In recent years, the incidence of IBD has been increasing in China. Compared with magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT), transabdominal ultrasound has many advantages such as real-time scanning, easy handling, no radiation, and low cost, representing the optimal modality for diagnosing IBD. A meta-analysis has showed that ultrasound is comparable to CT or MRI in

evaluation of IBD. Contrast-enhanced ultrasound is capable of detecting microcirculation perfusion of the intestinal wall, and ultrasound elastography is able to assess the stiffness of the intestinal wall. Both of them have great potential in the diagnosis of IBD and will further improve diagnostic performance.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Crohn's disease; Ulcerative colitis; Transabdominal ultrasound; Contrast-enhanced ultrasound; Ultrasound elastography

Liu C, Xu HX. Transabdominal ultrasound for diagnosis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3467-3472 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3467.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3467>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性炎症性疾病, 主要包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。其活动期与缓解期反复交替, 需要终身治疗。近年来, 我国IBD的发病率呈持续上升的趋势。相对于核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和计算机断层扫描(computed tomography, CT), 经腹超声具有无创、无放射学、操作简便、价廉、患者依从性高等特性, 成为IBD检查的理想工具。Meta分析结果证实, 经腹超声用于评估IBD, 诊断价值与CT、MRI等检查相近。近年来出现的超声造影技术能反映病变肠段的微循环灌注, 而超声弹性成像能反映病变肠段的软硬水平, 二者在IBD的诊断和评估中具有潜在的临床价值, 能进一步提高超声评估IBD的水平。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 克罗恩病; 溃疡性结肠炎; 经腹超声; 超声造影; 弹性成像

核心提示: 超声作为一种简便易行的方法, 在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的诊

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的诊断主要依靠临床表现、内镜检查和组织学活检。影像学检查如核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和计算机断层扫描(computed tomography, CT)以及超声(ultrasound, US)在IBD的疾病诊断、活动性评估、并发症的检测、治疗后的疗效评估等方面发挥着日益重要的作用。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■应用要点

经腹超声具有无创、无放射学、操作简便、价廉、患者依从性高等特性,成为IBD检查的理想工具。

断中可以媲美增强CT及核磁共振成像(magnetic resonance imaging), 超声新技术的出现进一步丰富了超声检查的手段, 从形态、功能、微循环灌注、质地等多个不同角度提供了IBD患者肠道的病变信息。因此可以预计超声检查在IBD的诊断中可以发挥不可替代的作用, 进一步提高超声(ultrasound, US)诊断IBD的水平、规范和普及US在IBD中的应用十分重要。

刘畅, 徐辉雄. 进一步提高经腹超声评估炎症性肠病的水平. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3467-3472 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3467.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3467>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因尚不明确的以肠道免疫功能紊乱为主的慢性非特异性炎症性疾病, 主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)^[1]. 近年来随着生活方式的改变和认识水平的提高, IBD的发病率逐年上升. IBD的诊断主要依靠临床表现、内镜检查和组织学活检^[2]. 影像学检查如核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和计算机断层扫描(computed tomography, CT)以及超声(ultrasound, US)在IBD的疾病诊断、活动性评估、并发症的检测、治疗后的疗效评估等方面发挥着日益重要的作用^[3]. US因具有无创、无辐射、操作方便、价廉、容易掌握、准确性高、患者依从性好等优点, 近年来越来越多受到关注^[4].

1 病理和临床表现

IBD主要发生于青壮年, 男女发病率无明显差异^[5], UC和CD的临床表现有较多重叠, 不易鉴别. 在病理上, UC是一种慢性非特异性结肠炎症, 病变主要累及结肠黏膜和黏膜下层, 范围多自远端结肠开始, 逆行向近端发展, 甚至累及全结肠和近端回肠. 而CD是一种慢性肉芽肿性炎症, 病变可累及整个肠道, 以末端回肠和邻近结肠为主, 呈穿壁性炎症, 多节段性、非对称性分布. UC临床主要表现为腹痛、腹胀、腹泻、黏液脓血便等消化系统症状, 同时可伴有消瘦、贫血、低蛋白血症及水电解质紊乱等全身表现和多种肠外表现. CD临床主要表现为腹痛、腹泻、腹部包块、肠梗阻及肛门直肠周围病变等消化系统症状、体征, 可伴有发热、营养障碍等全身性表现和肠外多个系统损害等^[6].

2 超声扫描及表现

近年来, US检查成为临床应用于IBD诊断的重要手段之一^[7]. 检查前一晚常规禁食, 并开始口服不可吸收的无回声对比剂(常用复方聚乙二醇电解质)进行肠道准备, 以充盈肠腔、减少肠腔内气体和肠蠕动.

检查时常先用经腹凸阵探头(频率一般为2-5 MHz)自右下腹开始顺时针方向扫查, 依次扫查回盲部、升结肠、横结肠、降结肠及乙状结肠, 最后再回到脐周观察余下肠段. 必要时还需经会阴或经直肠扫查观察肛周或直肠病变. 在确定需重点观察的肠段后, 再切换到高频探头(频率一般为7.5-10.0 MHz)仔细观察^[8].

超声观察内容一般包括病变部位、累及肠段长度、肠壁厚度、肠壁层次、肠壁回声、肠管蠕动、肠管周围脂肪组织、肠周淋巴结、肠周及腹腔积液以及并发症情况(肠瘘、瘘管、脓肿、肠腔狭窄、梗阻等). 正常肠壁超声可显示5层结构, 从内到外依次为高回声黏膜层(或黏膜与肠腔界面), 低回声黏膜肌层, 高回声黏膜下层, 低回声肌层, 高回声浆膜层^[9,10].

CD活动期最常见的超声表现包括: (1)肠壁增厚(≥ 4 mm), 病变肠段各层次间结构模糊或消失, 尤其以黏膜下层增厚及回声增高明显; (2)肠壁僵硬, 结肠袋消失; (3)深溃疡形成, 黏膜下层的高回声界限中断; (4)肠腔狭窄、脓肿及瘘管形成等; (5)肠周脂肪增厚回声增高、肠周淋巴结肿大^[11]. 以肠壁厚度 ≥ 4 mm判断CD活动期, 敏感度为75%, 特异度为97%. 在随诊病例中, 建议以肠壁厚度 ≥ 4 mm作为判断复发的依据^[12].

CD活动期也伴随着肠壁微血管增多、用Limberg分级法半定量评估肠壁能量多普勒所见可用于区分活动期与缓解期^[13]. Limberg分型如下: 0型, 正常肠壁; I型, 肠壁增厚; II型, 肠壁增厚并有较短的血管出现; III型, 肠壁增厚并出现较长的血管; IV型, 肠壁增厚且出现能与肠系膜相连的长血管. 病变肠段能量多普勒分级越高, 表示疾病越活跃. 一般认为I、II型代表缓解期, III、IV型代表活动期.

UC活动期最常见的超声表现也是肠壁增厚^[14], 但因为病变主要局限于黏膜层和黏膜下层, 肠壁层次基本保持正常, 其肠壁血流信号增加及肠系膜淋巴结肿大情况不如CD.

采用高频US, Rodgers等^[15]报道在CD患者中检出并发症如肠腔狭窄、肠瘘、脓肿等的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别

为0.86、0.90、0.83、0.92; 0.78、0.95、0.86、0.91; 0.90、0.99、0.90、0.99。近期的Meta分析结果发现, 经腹超声对IBD的诊断性能等同于CT和MRI^[16]。

3 影像学比较

3.1 多层螺旋CT检查 近年来, 随着多层螺旋计算机断层扫描(multislice spiral computed tomography, MSCT)技术的不断进步和 workstation 图像重建软件的发展, MSCT为IBD的诊断提供了更多、更有价值的信息^[17]。常规的CT平扫和增强对小肠病变显示效果较差, 而CT小肠灌肠造影(computed tomography enterography, CTE)检查能很好地观察肠壁厚度并评估整个腹部病变情况^[18]。

UC的CT表现: (1)肠壁增厚。肠壁厚度平均为7.8 mm, 增厚的肠壁为连续性改变, 病变段肠壁的厚度大致均匀, 表现为对称性的改变, 或有分层现象, 表现为“靶征”或“双晕征”; (2)黏膜面的改变。黏膜面多发小溃疡和炎性息肉, 运用合理的窗宽、窗位, 可清楚显示出结肠腔内黏膜面锯齿状凹凸不平的改变, 而非病变区的黏膜面则是光滑的; (3)肠管形态的改变。可见病变区肠腔变细等表现; (4)肠系膜改变。病变区肠系膜密度升高、模糊, 同时伴有系膜血管束的边缘不清^[19]。

CD的CT表现: (1)肠壁增厚。口服对比剂后肠壁平均厚度>4 mm即为增厚, 通常为11-13 mm; (2)肠壁强化程度增加。CD活动期增强CT动脉期和静脉期肠壁均较邻近正常肠壁强化程度增加, 以静脉期更明显; (3)肠系膜血管改变, 表现为血管束扭曲、扩张、增多, 称为“木梳征”; (4)并发症表现。可见肠管周围蜂窝组织炎、炎性肿块、脓肿、瘘管和肠梗阻等^[20,21]。

3.2 MRI检查 随着MRI设备软、硬件发展和肠道对比剂的应用, 肠道MRI影像质量有了很大提高, 对IBD诊断的敏感性和特异性不亚于CT^[22]。

UC的MRI表现主要有: 肠壁增厚^[23]、肠壁的异常强化、病灶周围多发淋巴结和结肠皱襞减少。UC急性期由于黏膜和黏膜下层肿胀, 使MR T1和T2加权成像均呈高信号; 慢性期结肠壁在T1和T2加权成像上均呈低信号^[24,25]。

CD的MRI表现包括: (1)病变肠壁因炎性充血致肠壁强化幅度增加, 据此可准确反映病变范围, 且炎性肠壁的增强程度与炎症程度密切相关, 中-重度炎症肠壁的血管通透性大, 因此其较正常和轻度炎症的肠壁强化更明显; (2)肠壁

厚度>4 mm, 可与周围蜂窝织炎黏连、融合而边界不清, 开始时常表现为偏心性肠壁增厚, 随着病变的进展也可表现为肠壁环形增厚; (3)多节段性病变或跳跃性病变, 表现为多个肠段的肠壁增厚和强化幅度增加, 其间隔为正常厚度和正常强化的肠段^[26]。

MRI无电离辐射的优点使其更适于年轻患者的长期观察随访, 在临床上具有好的应用前景。但目前MRI对IBD活动性的定量评估尚无统一标准, 制定一个统一的量化标准还需多中心大样本研究。此外, MRI的局限性如检查费用昂贵、耗时较长且有较多禁忌证如体内金属植入物、幽闭恐惧症等也限制了其广泛应用。

有学者将MRI与US评估CD范围及活动性分别做了对比, 发现US诊断的敏感性(91%)、特异性(98%)及准确性(95%)均高于MRI(分别为83%、97%、91%); 两种方法对回盲部病变的敏感性均较高(分别为100%和93%); 对于瘘管的检测, US的敏感性、特异性、准确性分别为82%、100%、90%, 而MRI则为70%、92%、80%^[27]。

MRI和CT有一个共同的局限, 检查前都必须要求患者口服大量的造影剂, 患者依从性较差^[28]; 造影剂应用于肾功能不全的患者有所限制^[29]。

4 US应用进展

4.1 超声造影检查 超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)是近年来出现的一种新技术, 他通过经外周静脉注射超声造影剂, 采用造影剂特异性成像的成像技术, 示踪显示造影剂在血管及微循环内的运行情况^[30]。目前临床常用的造影剂为SonoVue, 为包裹六氟化硫气体的微泡, 微泡外壳的主要成分为磷脂。CEUS能显著提高对低速血流以及微小血管的显示能力, 近年来广泛用于炎症性肠病的诊断和评估^[31]。

4.1.1 判断活动性: 从CEUS增强形态学上观察, CD患者CEUS可观察到4种模式, 分别为: 模式1: 肠壁全层高增强; 模式2: 肠壁内层高增强(黏膜层、黏膜肌层及黏膜下层); 模式3: 仅黏膜下层高增强; 模式4: 肠壁无增强, 其中模式3、4主要见于非活动期患者, 模式1、2主要见于活动期患者。以此来判断病变的活动性敏感性为93.5%, 特异性为93.7%(以肠镜及活检结果为金标准)。

也有学者采用CEUS定量的方法来判断CD的活动性, CEUS峰值强度增高及达峰时间(time-

■同行评价

本文立题有依据, 述评内容集中, 结果明确, 具有一定指导意义。

to-peak, TTP)较短通常提示活动期,反之则为非活动期^[32]. CEUS定量方法与Limberg分型及肠壁厚度有较好的相关性^[33]. 也有学者使用了另外一种定量的方法(E/W比率, E为增强层的主要厚度,和W为整个肠壁的厚度)并将CEUS的结果和通过克罗恩病活动性指数测量的临床活动性作比较. 结果发现E/W比率和克罗恩病活动性指数呈正相关. 活动期(CDAI>150)E/W比率明显比非活动期(CDAI<150) E/W比率高.

在UC患者中, Serra等^[34]也发现CEUS峰值强度与UC炎症程度呈正相关, 而TTP/峰值强度比值则与炎症程度呈负相关, 提示CEUS定量分析可用于评估UC活动性^[10].

4.1.2 炎性包块定性: CD患者常合并肠周炎性包块, 主要包括肠周蜂窝织炎及脓肿形成^[35]. 两者在临床上的处理方法各异, 脓肿常需外科引流, 盲目采用生物治疗方法有导致败血症的风险^[36]; 而蜂窝织炎则以内科治疗为主. 常规US鉴别脓肿及蜂窝织炎较困难, 而CEUS鉴别二者较易. 脓肿在CEUS上一般表现为无增强, 而蜂窝织炎CEUS动脉期为高增强.

4.1.3 肠腔狭窄评估: CD患者肠腔狭窄发生率为12%-54%^[37], 肠腔狭窄可导致患者生活质量下降. 狭窄可为纤维性、炎性或兼而有之. 炎性狭窄为主者多采用内科治疗, 而纤维性狭窄者多采用内镜下气囊扩张或外科治疗^[12]. 因此, 鉴别肠腔狭窄的性质对临床决定治疗方案十分重要. 结肠镜为诊断肠腔狭窄的金标准^[38], 但到达小肠部位的狭窄较困难. 常规超声对判断狭窄性质价值有限, 而CEUS则具有独特的优势^[39,40]. Lauenstein等^[41]认为狭窄段肠壁黏膜下层明显增强表明严重的血管化, 应考虑为炎性狭窄; 炎性狭窄病程较长者可表现为全肠壁增强. 纤维性狭窄尽管也可出现全肠壁增强, 但增强多首先从肠壁外层或肠周血管开始. 此外, 炎性狭窄者通常增强程度较高, 而纤维性狭窄者增强程度较弱.

4.1.4 评估疗效: Gourtsoyiannis等^[42]采用CEUS定量方法分析了药物治疗前后CD患者肠壁增强的曲线下面积, 发现对药物治疗有效者的CEUS时间强度曲线下面积明显低于对药物治疗无效者, 提示CEUS可用于前瞻性预测药物治疗的疗效. 此外, CEUS也可用于外科手术后吻合口的随访和复发的监测^[43].

4.2 超声弹性成像 超声弹性成像(ultrasound elastography, UE)是近年来出现的另一种超声成像

新技术^[43], 他通过施加外力或通过超声探头发射声波, 推动组织发生形变, 通过检测形变来反映组织的软硬度^[44]. 因此, 他与CEUS技术反映组织的微循环灌注不同, 反映的是组织的另外一个重要特征-即组织弹性^[45].

Del Vescovo等^[46]较早探讨了实时UE在CD中的应用, 结果发现实时UE可用来区分狭窄的肠段与正常肠段. Lasocki等^[47]也发现在UC患者中, 实时UE与肠镜表现密切相关, 实时UE并可用来预测UC患者对药物治疗的反应. 但UE在IBD中的应用还需积累更多经验.

5 结论

超声作为一种简便易行的方法, 在IBD的诊断中可以媲美增强CT及MRI, 超声新技术如CEUS和UE等技术的出现进一步丰富了超声检查的手段^[48], 从形态、功能、微循环灌注、质地等多个不同角度提供了IBD患者肠道的病变信息^[49]. 因此可以预计超声检查在IBD的诊断中可以发挥不可替代的作用, 进一步提高US诊断IBD的水平、规范和普及US在IBD中的应用十分重要.

6 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 现代消化及介入诊疗 2008; 13: 139-145
- 2 刘畅, 徐辉雄, 徐晓蓉, 吴剑, 张一峰, 郭乐杭, 孙丽萍, 徐军妹, 王帅, 刘媛媛, 刘琳娜. 经腹超声检查在克罗恩病中的应用. 影像诊断与介入放射学 2012; 21: 446-449
- 3 Neye H, Ensberg D, Rauh P, Peitz U, Mönkemüller K, Treiber G, Klauck S, Malfertheiner P, Rickes S. Impact of high-resolution transabdominal ultrasound in the diagnosis of complications of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 690-695 [PMID: 20235899 DOI: 10.3109/00365521003710190]
- 4 Panes J, Bouhnik Y, Reinisch W, Stoker J, Taylor SA, Baumgart DC, Danese S, Halligan S, Marincek B, Matos C, Peyrin-Biroulet L, Rimola J, Rogler G, van Assche G, Ardizzone S, Ba-Ssalamah A, Bali MA, Bellini D, Biancone L, Castiglione F, Ehehalt R, Grassi R, Kucharzik T, Maccioni F, Maconi G, Magro F, Martín-Comín J, Morana G, Pendsé D, Sebastian S, Signore A, Tolan D, Tielbeek JA, Weishaupt D, Wiarda B, Laghi A. Imaging techniques for assessment of inflammatory bowel disease: joint ECCO and ESGAR evidence-based consensus guidelines. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 556-585 [PMID: 23583097 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.02.020]
- 5 Gaitini D, Kreitenberg AJ, Fischer D, Maza I, Chowders Y. Color-coded duplex sonography compared to multidetector computed tomography for the diagnosis of crohn disease relapse and complications. *J Ultrasound Med* 2011; 30: 1691-1699 [PMID: 22124005]
- 6 Ripollés T, Rausell N, Paredes JM, Grau E, Martínez MJ, Vizueté J. Effectiveness of contrast-enhanced

- ultrasound for characterisation of intestinal inflammation in Crohn's disease: a comparison with surgical histopathology analysis. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 120-128 [PMID: 22483566 DOI: 10.1016/j.crohns.2012.03.002]
- 7 De Franco A, Di Veronica A, Armuzzi A, Roberto I, Marzo M, De Pascalis B, De Vitis I, Papa A, Bock E, Danza FM, Bonomo L, Guidi L. Ileal Crohn disease: mural microvascularity quantified with contrast-enhanced US correlates with disease activity. *Radiology* 2012; 262: 680-688 [PMID: 22157203 DOI: 10.1148/radiol.11110440]
 - 8 Quaia E, Cabibbo B, De Paoli L, Toscano W, Poillucci G, Cova MA. The value of time-intensity curves obtained after microbubble contrast agent injection to discriminate responders from non-responders to anti-inflammatory medication among patients with Crohn's disease. *Eur Radiol* 2013; 23: 1650-1659 [PMID: 23306710 DOI: 10.1007/s00330-012-2754-1]
 - 9 Girlich C, Schacherer D, Jung EM, Klebl F, Huber E. Comparison between quantitative assessment of bowel wall vascularization by contrast-enhanced ultrasound and results of histopathological scoring in ulcerative colitis. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 193-198 [PMID: 21847545 DOI: 10.1007/s00384-011-1300-y]
 - 10 Migaleddu V, Scanu AM, Quaia E, Rocca PC, Dore MP, Scanu D, Azzali L, Virgilio G. Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 43-52 [PMID: 19422826 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.062]
 - 11 Quaia E. Contrast-enhanced ultrasound of the small bowel in Crohn's disease. *Abdom Imaging* 2013; 38: 1005-1013 [PMID: 23728306]
 - 12 Stidham RW, Xu J, Johnson LA, Kim K, Moons DS, McKenna BJ, Rubin JM, Higgins PD. Ultrasound elasticity imaging for detecting intestinal fibrosis and inflammation in rats and humans with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2011; 141: 819-826.e1 [PMID: 21784048 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.027]
 - 13 Ishikawa D, Ando T, Watanabe O, Ishiguro K, Maeda O, Miyake N, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Hirooka Y, El-Omar EM, Goto H. Images of colonic real-time tissue sonoelastography correlate with those of colonoscopy and may predict response to therapy in patients with ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 29 [PMID: 21453450 DOI: 10.1186/1471-230X-11-29]
 - 14 Onali S, Calabrese E, Petruzzello C, Zorzi F, Sica G, Fiori R, Ascolani M, Lolli E, Condino G, Palmieri G, Simonetti G, Pallone F, Biancone L. Small intestine contrast ultrasonography vs computed tomography enteroclysis for assessing ileal Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6088-6095 [PMID: 23155337 DOI: 10.3748/wjg.v18.i42.6088]
 - 15 Rodgers PM, Verma R. Transabdominal ultrasound for bowel evaluation. *Radiol Clin North Am* 2013; 51: 133-148 [PMID: 23182513 DOI: 10.1016/j.rcl.2012.09.008]
 - 16 Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785-1794 [PMID: 21530745 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.055]
 - 17 Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Intern Med* 2002; 252: 475-496 [PMID: 12472908]
 - 18 Pizarro TT, Pastorelli L, Bamias G, Garg RR, Reuter BK, Mercado JR, Chieppa M, Arseneau KO, Ley K, Cominelli F. SAMP1/YitFc mouse strain: a spontaneous model of Crohn's disease-like ileitis. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2566-2584 [PMID: 21557393 DOI: 10.1002/ibd.21638]
 - 19 Peyrin-Biroulet L, Loftus EV, Colombel JF, Sandborn WJ. The natural history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 289-297 [PMID: 19861953 DOI: 10.1038/ajg.2009.579]
 - 20 Adler J, Swanson SD, Schmiedlin-Ren P, Higgins PD, Golembeski CP, Polydorides AD, McKenna BJ, Hussain HK, Verrot TM, Zimmermann EM. Magnetization transfer helps detect intestinal fibrosis in an animal model of Crohn disease. *Radiology* 2011; 259: 127-135 [PMID: 21324841 DOI: 10.1148/radiol.10091648]
 - 21 Holtmann MH, Neurath MF. Anti-TNF strategies in stenosing and fistulizing Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2005; 20: 1-8 [PMID: 15459771]
 - 22 Calabrese E. Bowel ultrasound for the assessment of Crohn's disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2011; 7: 107-109 [PMID: 21475417]
 - 23 Dietrich CF. Significance of abdominal ultrasound in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 482-493 [PMID: 19897964 DOI: 10.1159/000233287]
 - 24 Astegiano M, Bresso F, Cammarota T, Sarno A, Robotti D, Demarchi B, Sostegni R, Macchiarella V, Pera A, Rizzetto M. Abdominal pain and bowel dysfunction: diagnostic role of intestinal ultrasound. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 927-931 [PMID: 11507357]
 - 25 Parente F, Greco S, Molteni M, Cucino C, Maconi G, Sampietro GM, Danelli PG, Cristaldi M, Bianco R, Gallus S, Bianchi Porro G. Role of early ultrasound in detecting inflammatory intestinal disorders and identifying their anatomical location within the bowel. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1009-1016 [PMID: 14616167]
 - 26 Borthne AS, Abdelnoor M, Rugtveit J, Perminow G, Reiser T, Kløw NE. Bowel magnetic resonance imaging of pediatric patients with oral mannitol MRI compared to endoscopy and intestinal ultrasound. *Eur Radiol* 2006; 16: 207-214 [PMID: 15942733]
 - 27 Panés J, Bouzas R, Chaparro M, García-Sánchez V, Gisbert JP, Martínez de Guereñu B, Mendoza JL, Paredes JM, Quiroga S, Ripollés T, Rimola J. Systematic review: the use of ultrasonography, computed tomography and magnetic resonance imaging for the diagnosis, assessment of activity and abdominal complications of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 125-145 [PMID: 21615440 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04710.x]
 - 28 Parente F, Greco S, Molteni M, Anderloni A, Sampietro GM, Danelli PG, Bianco R, Gallus S, Bianchi Porro G. Oral contrast enhanced bowel ultrasonography in the assessment of small intestine Crohn's disease. A prospective comparison with conventional ultrasound, x ray studies, and ileocolonoscopy. *Gut* 2004; 53: 1652-1657 [PMID: 15479688]
 - 29 Castiglione F, Bucci L, Pesce G, De Palma GD, Camera L, Cipolletta F, Testa A, Diaferia M, Rispo A. Oral contrast-enhanced sonography for the diagnosis and grading of postsurgical recurrence of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14:

- 1240-1245 [PMID: 18398896 DOI: 10.1002/ibd.20469]
- 30 Epifanio M, Baldisserotto M, Spolidoro JV, Gaiger A. Grey-scale and colour Doppler sonography in the evaluation of children with suspected bowel inflammation: correlation with colonoscopy and histological findings. *Clin Radiol* 2008; 63: 968-978 [PMID: 18718226 DOI: 10.1016/j.crad.2008.02.009]
- 31 Drews BH, Barth TF, Hänle MM, Akinli AS, Mason RA, Muche R, Thiel R, Pauls S, Klaus J, von Boyen G, Kratzer W. Comparison of sonographically measured bowel wall vascularity, histology, and disease activity in Crohn's disease. *Eur Radiol* 2009; 19: 1379-1386 [PMID: 19184036 DOI: 10.1007/s00330-008-1290-5]
- 32 Di Sabatino A, Fulle I, Ciccocioppo R, Ricevuti L, Tinozzi FP, Tinozzi S, Campani R, Corazza GR. Doppler enhancement after intravenous levovist injection in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 251-257 [PMID: 12131608]
- 33 Rapaccini GL, Pompili M, Orefice R, Covino M, Riccardi L, Cedrone A, Gasbarrini G. Contrast-enhanced power doppler of the intestinal wall in the evaluation of patients with Crohn disease. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 188-194 [PMID: 15000283]
- 34 Serra C, Menozzi G, Labate AM, Giangregorio F, Gionchetti P, Beltrami M, Robotti D, Fornari F, Cammarota T. Ultrasound assessment of vascularization of the thickened terminal ileum wall in Crohn's disease patients using a low-mechanical index real-time scanning technique with a second generation ultrasound contrast agent. *Eur J Radiol* 2007; 62: 114-121 [PMID: 17239555]
- 35 Kunihiro K, Hata J, Manabe N, Mitsuoka Y, Tanaka S, Haruma K, Chayama K. Predicting the need for surgery in Crohn's disease with contrast harmonic ultrasound. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 577-585 [PMID: 17454878]
- 36 Maconi G, Sampietro GM, Sartani A, Bianchi Porro G. Bowel ultrasound in Crohn's disease: surgical perspective. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 339-347 [PMID: 18188575 DOI: 10.1007/s00384-007-0418-4]
- 37 Kratzer W, von Tirpitz C, Mason R, Reinshagen M, Adler G, Möller P, Rieber A, Kächele V. Contrast-enhanced power Doppler sonography of the intestinal wall in the differentiation of hypervascularized and hypovascularized intestinal obstructions in patients with Crohn's disease. *J Ultrasound Med* 2002; 21: 149-157; quiz 158-159 [PMID: 11833871]
- 38 Sinha R, Murphy P, Hawker P, Sanders S, Rajesh A, Verma R. Role of MRI in Crohn's disease. *Clin Radiol* 2009; 64: 341-352 [PMID: 19264177 DOI: 10.1016/j.crad.2008.08.006]
- 39 Villa C, Pompili G, Franceschelli G, Munari A, Radaelli G, Maconi G, Cornalba GP. Role of magnetic resonance imaging in evaluation of the activity of perianal Crohn's disease. *Eur J Radiol* 2012; 81: 616-622 [PMID: 21316171 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.01.046]
- 40 Kayhan A, Oommen J, Dahi F, Oto A. Magnetic resonance enterography in Crohn's disease: Standard and advanced techniques. *World J Radiol* 2010; 2: 113-121 [PMID: 21160577 DOI: 10.4329/wjr.v2.i4.113]
- 41 Lauenstein TC, Schneemann H, Vogt FM, Herborn CU, Ruhm SG, Debatin JF. Optimization of oral contrast agents for MR imaging of the small bowel. *Radiology* 2003; 228: 279-283 [PMID: 12750457]
- 42 Gourtsoyiannis N, Papanikolaou N, Grammatikakis J, Maris T, Prassopoulos P. MR enteroclysis protocol optimization: comparison between 3D FLASH with fat saturation after intravenous gadolinium injection and true FISP sequences. *Eur Radiol* 2001; 11: 908-913 [PMID: 11419161]
- 43 Cosgrove D, Harvey C. Clinical uses of microbubbles in diagnosis and treatment. *Med Biol Eng Comput* 2009; 47: 813-826 [PMID: 19205774 DOI: 10.1007/s11517-009-0434-3]
- 44 Messaris E, Chandolias N, Grand D, Pricolo V. Role of magnetic resonance enterography in the management of Crohn disease. *Arch Surg* 2010; 145: 471-475 [PMID: 20479346 DOI: 10.1001/archsurg.2010.68]
- 45 Shrot S, Konen E, Hertz M, Amitai MM. Magnetic resonance enterography: 4 years experience in a tertiary medical center. *Isr Med Assoc J* 2011; 13: 172-177 [PMID: 21608339]
- 46 Del Vescovo R, Sansoni I, Caviglia R, Ribolsi M, Perrone G, Leoncini E, Grasso RF, Cicala M, Zobel BB. Dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging of the terminal ileum: differentiation of activity of Crohn's disease. *Abdom Imaging* 2008; 33: 417-424 [PMID: 17639383]
- 47 Lasocki A, Pitman A, Williams R, Lui B, Kalade AV, Farish S. Relative efficacy of different MRI signs in diagnosing active Crohn's disease, compared against a histological gold standard. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2011; 55: 11-19 [PMID: 21382184 DOI: 10.1111/j.1754-9485.2010.02223.x]
- 48 Ha CY, Kumar N, Raptis CA, Narra VR, Ciorba MA. Magnetic resonance enterography: safe and effective imaging for stricturing Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2906-2913 [PMID: 21688128 DOI: 10.1007/s10620-011-1781-0]
- 49 Lawrance IC, Welman CJ, Shipman P, Murray K. Correlation of MRI-determined small bowel Crohn's disease categories with medical response and surgical pathology. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3367-3375 [PMID: 19610137]

编辑 田滢 电编 闫晋利



AIH与AIH-PBC重叠综合征的临床和病理特征

谢月萍, 李刚平, 郭晖, 杨玲, 宋宇虎, 叶进

谢月萍, 南宁市第一人民医院老年科 广西壮族自治区南宁市 530022

李刚平, 杨玲, 宋宇虎, 叶进, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科 湖北省武汉市 430022

郭晖, 华中科技大学同济医学院附属同济医院器官移植研究所 湖北省武汉市 430030

作者贡献分布: 本论文由叶进教授设计; 材料收集与文章撰写主要由谢月萍完成; 李刚平辅助收集材料; 数据分析由郭晖、杨玲及宋宇虎指导完成。

通讯作者: 叶进, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科。yejin8688@sina.com

收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Clinical and pathological features of AIH versus AIH-PBC overlap syndrome

Yue-Ping Xie, Gang-Ping Li, Hui Guo, Ling Yang, Yu-Hu Song, Jin Ye

Yue-Ping Xie, Department of Geriatrics, Nanning First Municipal People's Hospital, Nanning 530022, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Gang-Ping Li, Ling Yang, Yu-Hu Song, Jin Ye, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Hui Guo, Institute of Organ Transplantation, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Jin Ye, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Dadao, Wuhan 430022, Hubei Province, China. yejin8688@sina.com

Received: 2013-06-06 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To compare the clinical and pathological characteristics of patients with autoimmune hepatitis (AIH) and those with overlap syndrome of primary biliary cirrhosis (PBC) and autoimmune hepatitis (AIH-PBC overlap syndrome).

METHODS: Thirty patients with AIH and twenty patients with AIH-PBC overlap syndrome who were diagnosed at our hospital from January 2005 to December 2010 were involved in this study. The clinical features, biochemical markers

and histological characteristics were retrospectively analyzed and compared between the two groups.

RESULTS: Seventeen (56.7%) AIH patients and twelve (60%) AIH-PBC overlap syndrome patients accepted liver biopsy. There were no statistical differences in the levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) between AIH patients and AIH-PBC overlap syndrome patients ($P = 0.259, 0.889$, both $P > 0.05$). AIH-PBC overlap syndrome patients had significantly higher levels of alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) and total bilirubin (TBIL) than AIH patients (all $P < 0.01$). The pathological features of AIH patients included remarkable portal mononuclear cell infiltration, interface hepatitis, few focal and piecemeal necrosis in the hepatic lobule, and no abnormal findings in interlobular bile ducts. In AIH-PBC overlap syndrome patients, mononuclear cell infiltration in the portal interlobular bile duct, bile duct epithelial cell cavitation and interlobular bile duct structure atrophy as well as all pathological features of AIH patients were observed. Some patients had obvious portal fiber tissue hyperplasia and pseudo-bile duct proliferation.

CONCLUSION: Patients with AIH-PBC overlap syndrome have higher levels of ALP, γ -GT and TBIL than those with AIH. In addition to pathological features of AIH, AIH-PBC overlap syndrome also shows varying degrees of bile duct damage, such as remarkable portal mononuclear cell infiltration and interface hepatitis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; AIH-PBC overlap syndrome; Clinical features; Pathological features; Comparison

Xie YP, Li GP, Guo H, Yang L, Song YH, Ye J. Clinical and pathological features of AIH versus AIH-PBC overlap syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3473-3478 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3473>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3473>

■背景资料

随着医疗水平的提高,自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)与原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)检出率逐渐增多。国内外研究者对此两种疾病的认识也日趋清楚,但对于两者重叠综合征(AIH-PBC综合征)的临床认识还很贫乏。目前临床对其诊断尚无统一的标准,因而对诊断AIH-PBC综合征的意识不高,导致其检出率较低,严重影响AIH-PBC综合征患者的治疗效果。

■同行评议者

英卫东, 教授, 安徽省立医院肝外科

■ 研发前沿

自身免疫性肝病目前基础研究中在发病机制、临床研究主要是关于诊断标准的完善统一,特别是对于AIH-PBC综合征研究及诊断标准,是目前临床工作的重点和难点。

摘要

目的:比较自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)与自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)重叠综合征(AIH-PBC overlap syndrome)的临床和病理特点,以提高诊断AIH-PBC重叠综合征的水平。

方法:收集我院2005-01-01/2010-12-31共50例诊断为AIH及AIH-PBC重叠综合征患者的临床及病理资料,分析并比较两组的不同特点。

结果:AIH组30例, AIH-PBC重叠综合征组20例:其中AIH组行肝活检17例,占56.7%, AIH-PBC重叠综合征12例,占60%。两组的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)无统计学差异。AIH-PBC重叠综合征组碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)及血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)均显著高于AIH组水平($P < 0.01$)。AIH组病理特点为汇管区大量淋巴细胞浸润、界板性炎症、肝小叶内少数灶状和碎屑样肝细胞坏死,但小叶间胆管未见明显异常; AIH-PBC重叠综合征组病理特点:除具备AIH病理特点外,还可见汇管区小叶间胆管上皮内淋巴细胞浸润,胆管上皮细胞空泡变,小叶间胆管结构萎缩,少数病例可见汇管区内纤维组织明显增生和少数假胆管增生。

结论:AIH-PBC重叠综合征组的ALP和 γ -GT及血清总胆红素水平较AIH组高;病理特点上AIH组表现为汇管区大量淋巴细胞浸润、界板性肝炎; AIH-PBC重叠综合征组除具备AIH组织学特点外还有不同程度的胆管损伤。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:自身免疫性肝炎; 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化重叠综合征; 临床特点; 病理特点; 不同比较

核心提示:通过与自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者临床及病理特点的比较分析发现,自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化重叠综合征(AIH-PBC overlap syndrome)重叠综合征患者具有碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase)、总胆红素及IgM升高的特点;免疫学检查方面除抗核抗体(antinuclear antibodies, ANA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibodies, SMA)、抗可溶性肝抗

原/抗肝胰抗原(soluble liver antigen/liver-pancreas, SLA/LP)等抗体呈阳性外,还抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)或AMA-M₂抗体阳性;此外, AIH-PBC重叠综合征患者肝脏病理组织学上除具有汇管区内淋巴细胞浸润、界板性炎症、少数灶状和碎片状肝细胞坏死等特点外,还可见小叶间胆管上皮细胞空泡变和淋巴细胞浸润,胆管结构萎缩,或可见汇管区内纤维组织明显增生和假胆管增生。

谢月萍, 李刚平, 郭晖, 杨玲, 宋宇虎, 叶进. AIH与AIH-PBC重叠综合征的临床和病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3473-3478 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3473.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3473>

0 引言

随着近年来国内外研究的深入,自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)与原发性胆汁性肝硬化之间的异同点渐趋明了^[1-4],临床诊断水平也日益提高,但自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化重叠综合征[(autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis, AIH-PBC) overlap syndrome]是一种单独的疾病还是AIH或PBC发展过程中的一个病理阶段,目前尚无定论;另外,目前国际上对于重叠综合征的诊断尚无统一的标准^[5-8],因而导致临床医生不能及时发现和确诊AIH-PBC重叠综合征^[9],从而直接影响AIH-PBC重叠综合征的疗效。因此,本文拟通过比较AIH与AIH-PBC重叠综合征的临床及病理特点,以期待提高临床医生对AIH-PBC重叠综合征的诊断水平。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-01-01/2010-12-31我院诊治的30例AIH患者和20例PBC-AIH重叠综合征患者。诊断标准: AIH患者按照2010年美国肝病研究学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)的《自身免疫性肝炎的诊治指南》^[10]筛选入组; AIH-PBC重叠综合征的诊断参照2009年胆汁淤积性肝病诊断治疗专家委员会制定的《胆汁淤积性肝病诊断治疗共识》^[11]筛选入组。

1.2 方法 患者的性别、年龄、临床症状、体征、合并其他自身免疫性疾病、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)、

表 1 一般情况及临床症状及体征 $n(\%)$

分组	n	年龄(岁)	男:女	乏力	腹胀	黄疸	口干眼干	瘙痒	黄色素瘤
AIH	30	49.3±12.48	1:9	16(53)	10(33)	6(20)	5(17)	4(13)	0
AIH-PBC	20	54.3±7.02	1:19	9(45)	3(15)	8(40)	3(15)	7(35)	2(10)

AIH: 自身免疫性肝炎; AIH-PBC: 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化。

TBIL、DBIL、自身抗体[抗核抗体(antinuclear antibodies, ANA)、抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)/M₂、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibodies, SMA)、抗可溶性肝抗原/抗肝胰抗原(soluble liver antigen/liver-pancreas, SLA/LP)、抗肝肾微粒体抗体(LKM)-1、抗肝细胞胞浆抗原1型抗体(LC-1)]、免疫球蛋白(IgG、IgM)和组织病理学特点。

统计学处理 成正态分布计量资料使用以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间差别使用 t 检验; 计数资料使用 χ^2 检验。统计分析使用 SPSS17.0 软件, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 AIH组平均年龄为49.3岁±12.48岁, 最小年龄为20岁; AIH-PBC重叠综合征组平均年龄为54.3岁±7.02岁, 最小年龄为36岁, AIH-PBC重叠综合征组的年龄较AIH组年龄大, 但是两组间无统计学差异。AIH组男性患者3例, 男女比例为1:9; AIH-PBC重叠综合征组男性患者1例, 男女比例为1:19。AIH组最常见症状为乏力(53%), 其他症状依次为腹胀(33%)、黄疸(20%)、口干眼干(17%)、瘙痒(13%)。AIH-PBC重叠综合征组最常见症状为乏力(45%)其他症状依次为黄疸(40%)、瘙痒(35%)、腹胀(15%)、口干眼干(15%)、黄色素瘤(10%)(表1)。AIH组合并干燥综合征3例, 合并未分化型结缔组织病1例; AIH-PBC重叠综合征组合并干燥综合征3例, 免疫性溶血性贫血1例, 银屑病1例, 未分化型结缔组织病2例。

2.2 生化指标 AIH组ALT、AST值分别为115.14 U/L±89.08 U/L、122.23 U/L±104.96 U/L, AIH-PBC重叠综合征组的ALT、AST值分别为80.05 U/L±68.94 U/L、122.75 U/L±145.61 U/L(P 值分别为0.259和0.889), 两组间无统计学差异。AIH组 γ -GT、ALP值分别为79.67 U/L±33.48 U/L、231.96 U/L±178.77 U/L, AIH-PBC重叠综合征组 γ -GT、ALP值分别为371.67 U/L±131.38 U/L、416.05 U/L±241.88 U/L(均 $P < 0.01$), 两组间具有统计学差异。AIH与AIH-PBC重叠综合征

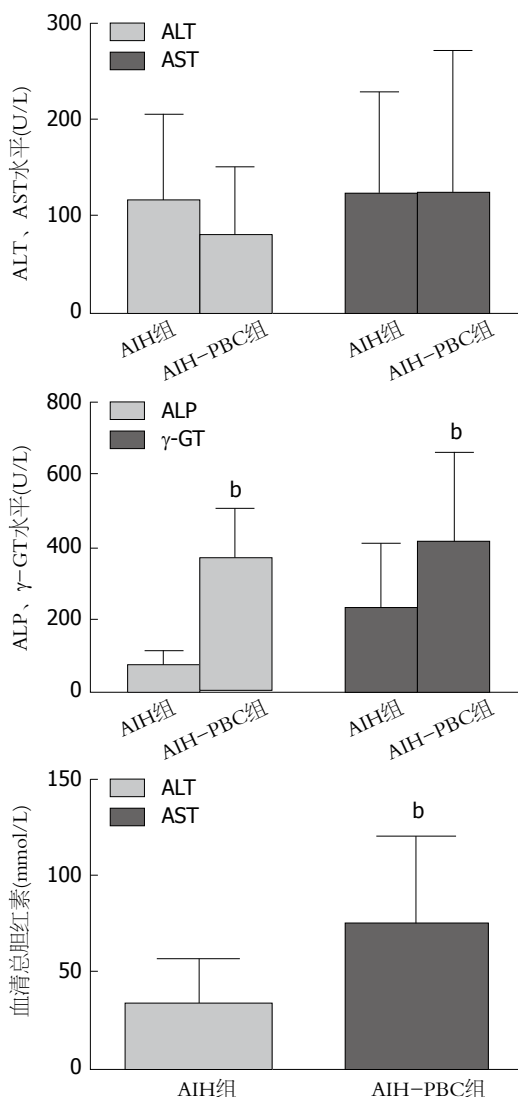


图 1 两者生化指标比较。^b $P < 0.01$ vs AIH组。AIH: 自身免疫性肝炎; AIH-PBC: 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化。ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALP: 碱性磷酸酶; γ -GT: γ -谷氨酰转肽酶。

组TBIL值分别为33.82 $\mu\text{mol/L} \pm 23.24 \mu\text{mol/L}$, 76.09 $\mu\text{mol/L} \pm 43.14 \mu\text{mol/L}$ ($P = 0.006$), 两组间具有显著性差异(图1)。

2.3 免疫指标 AIH组的自身抗体谱为ANA、SMA、SLA/LP为主; AIH-PBC重叠综合征组的自身抗体谱为AMA、AMA-M₂为主。AIH和AIH-PBC重叠综合征组ANA的阳性率均为100%, 滴

■ 相关报道

曹忆嵘等研究报告显示, AIH-PBC综合征发病常见于女性, 其发病年龄较AIH患者年龄小, 同时还发现AIH-PBC综合征患者IgM水平要显著高于AIH组; 韩善乐等发现AIH-PBC重叠综合征和AIH患者的主要症状是乏力; 马欢等研究发现AIH-PBC重叠综合征患者具有较高ANA阳性率。

■创新盘点

本文将临床自身免疫性肝病中最为常见AIH与目前研究尚不清楚的AIH-PBC重叠综合征进行了生化、免疫、病理等特点方面进行比较,重点突出了AIH-PBC重叠综合征的不同特点。

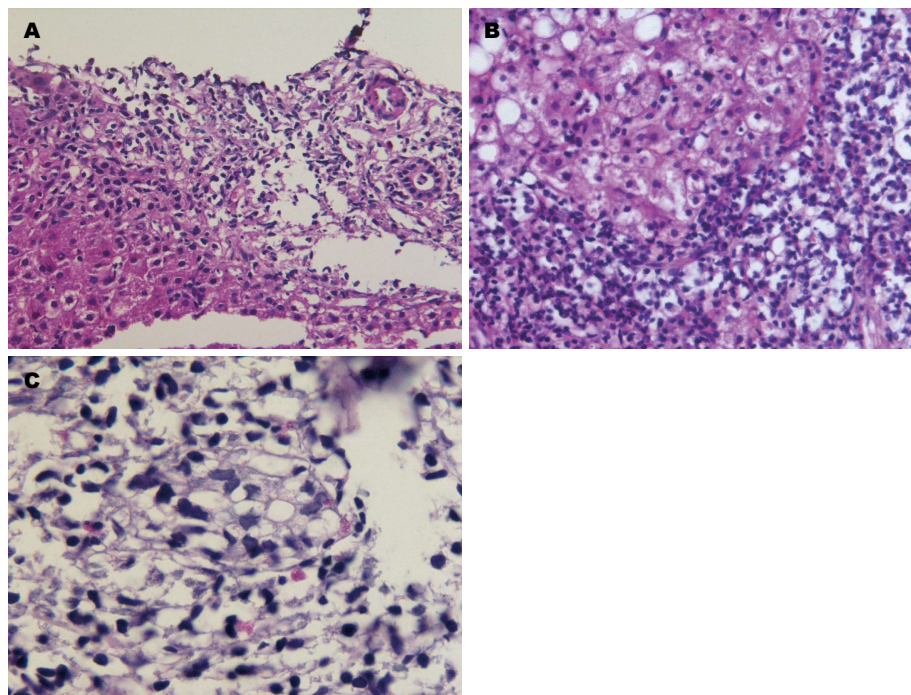


图2 AIH病理表现. A: 汇管区大量淋巴细胞浸润(HE染色×100); B: 界面性肝炎(HE染色×100); C: 肝细胞灶状坏死(HE染色×200). AIH: 自身免疫性肝炎。

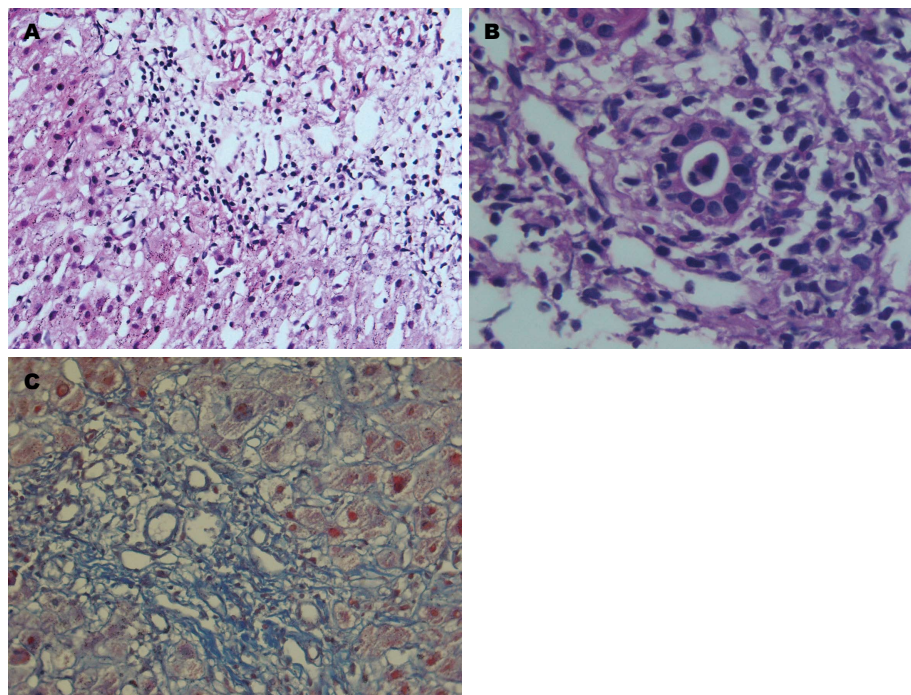


图3 AIH-PBC综合征病理表现. A: 界面性肝炎(HE染色×100); B: 小叶间胆管炎(HE染色×200); C: 胆管周围纤维化(Masson染色×200). AIH-PBC: 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化。

度均大于1:160, 最高达1:3200. AIH-PBC重叠综合征组AMA、AMA-M₂阳性率高于AIH组($\chi^2 = 49, P < 0.0001$)(表2). AIH组免疫球蛋白是以IgG增高为主, AIH-PBC重叠综合征组IgG及IgM水平均增高. AIH-PBC重叠综合征组的血清IgG水平($20.02 \text{ g/L} \pm 5.99 \text{ g/L}$)与AIH组($18.26 \text{ g/L} \pm$

6.61 g/L)无显著差异, 但IgM($3.99 \text{ g/L} \pm 0.56 \text{ g/L}$)较AIH组($1.50 \text{ g/L} \pm 0.28 \text{ g/L}$)高, 具有统计学差异($P < 0.001$).

2.4 肝脏组织病理学 本研究中17例AIH和12例AIH-PBC重叠综合征患者行肝活检. AIH组汇管区内大量淋巴细胞浸润, 汇管区和肝小叶交

表 2 两组自身抗体及免疫球蛋白水平比较

分组	n	ANA n(%)	SMA n(%)	SLA/LP n(%)	AMA/M ₂	IgG(g/L)	IgM(g/L)
AIH	30	30(100)	13(43.3)	1(3.3)	0	18.26 ± 6.61	1.50 ± 0.28
AIH-PBC	20	20(100)	3(15)	0	20(100)	20.02 ± 5.99	3.99 ± 0.56
检验值	—	—	4.339	0.667	49	-0.75	-15.89
P值	—	—	0.037	0.414	<0.0001	0.458	<0.001

AIH: 自身免疫性肝炎; AIH-PBC: 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化; ANA: 抗核抗体; SMA: 抗平滑肌抗体; SLA/LP: 抗可溶性肝抗原/抗肝胰抗原; AMA: 抗线粒体抗体。

界处可见界板性炎症, 部分肝小叶可见少数灶状和碎片状肝细胞坏死, 小叶间胆管未见异常。AIH-PBC重叠综合征组除见界面性肝炎外, 还可见小叶间胆管上皮细胞空泡变和淋巴细胞浸润, 胆管结构萎缩, 少数病例可见汇管区内纤维组织明显增生和假胆管增生(图2, 3)。

3 讨论

AIH是一种病因目前尚不明确的好发于女性的以肝细胞为相对特异性的肝脏慢性炎症疾病, 以高免疫球蛋白血症、循环自身抗体和组织学上界面性肝炎及汇管区浆细胞浸润为特征^[1], 除常合并肝外自身免疫性疾病外, 还常同时重叠PBC或PSC的存在^[12]。AIH-PBC重叠综合征是自身免疫性肝病中任意两种重叠发生中最常见的一种, 同时具有AIH与PBC的临床表现、生化特点、免疫学特点以及病理组织学特点, 但是发病机制并非两者简单的叠加^[13]。目前国际上对AIH-PBC重叠综合征是否为一个单独的疾病尚无定论, 对其诊断也没有统一的标准, 其治疗也不同于单独的AIH或PBC的治疗^[14,15], 因而对AIH-PBC重叠综合征的正确诊断显得至关重要。本研究结果显示, 两组均好发于女性, AIH组发病年龄较AIH-PBC重叠综合征组年龄小, 与既往报道一致^[16,17]。韩善乐、涂传涛及汪嘉莉等^[18-20]报告显示, 乏力症状是AIH和AIH-PBC重叠综合征患者的主要症状, 本研究的结果也显示两组均以乏力症状最明显。高冀蓉与蔡少平等^[21,22]研究结果发现AIH-PBC重叠综合征患者与AIH患者的次要症状没有差别, 而本研究显示此两组次要症状具有差别, AIH-PBC重叠综合征组为黄疸, AIH组则为腹胀, 此结果与生化检查结果具有一致性。虽然两组生化指标ALT、AST均高于正常值, 但无统计学差异。AIH-PBC重叠综合征组的ALP、 γ -GT均较AIH组高, 两组间具有统计学差异(均 $P<0.01$), 提示AIH-PBC重叠综合征

的胆道损伤、胆汁淤积的存在。另外, AIH-PBC重叠综合征组的TBIL也明显高于AIH组, 说明AIH-PBC重叠综合征较AIH更早出现黄疸。研究结果还显示, AIH组与AIH-PBC重叠综合征组的ANA阳性检出率基本相同, 与马欢、吴欣等^[23,24]报告AIH-PBC重叠综合征ANA阳性率较高的结果相似, 但AIH-PBC重叠综合征组血清中还可检测AMA或AMA-M₂。此外, 免疫球蛋白AIH-PBC重叠综合征组IgG水平与AIH组水平无差异, 而IgM水平要显著高于AIH组。

肝脏组织病理学特点对于自身免疫性肝病的鉴别、诊断以及预后的判断也十分重要^[25-27], 在本研究中还发现, AIH-PBC重叠综合征除AIH病理学特点外, 还有不同程度的胆管组织损伤, 与国外文献报道相符^[6,28-30]。

在临床工作中, 应该注意有否AIH-PBC重叠综合征的存在。当患者ALT、AST升高的同时合并有ALP、 γ -GT、总胆红素及IgM升高, 则要高度怀疑AIH-PBC重叠综合征的可能, 除检查ANA、SMA、SLA/LP等抗体外, 还应该检查AMA或AMA-M₂, 以确定AIH-PBC重叠综合征的存在。如有条件也可行肝脏病理组织学检查进行确诊。因此, 本研究希望通过比较AIH与AIH-PBC的临床和病理特点, 以提高诊断AIH-PBC重叠综合征的水平, 使AIH-PBC重叠综合征的患者得到及时和正确的治疗。

4 参考文献

- Gossard AA, Lindor KD. Autoimmune hepatitis: a review. *J Gastroenterol* 2012; 47: 498-503 [PMID: 22526272 DOI: 10.1007/s00535-012-0586-z]
- Hirschfield GM. Diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 701-712 [PMID: 22117636 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.10.005]
- 苏立稳. 自身免疫性肝炎与原发性胆汁性肝硬化重叠综合征10例临床分析. *中西医结合肝病杂志* 2012; 22: 46
- 周新刚, 沈冰, 滕晓英, 孙磊, 王鹏, 郎振为. 免疫组化法检测原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎肝组织中浆细胞IgM和IgG的意义探讨. *中华内科杂志* 2010; 49: 1043-1044

■应用要点

本研究显示了AIH-PBC重叠综合征与AIH患者临床及病理的不同特点, 提醒广大的临床工作者在诊断患者为AIH以后还需要考虑是否存在AIH-PBC重叠综合征的可能, 对提高临床诊断AIH-PBC重叠综合征水平具有较好的指导作用。

■同行评价

本文对临床诊断
和治疗AIH-PBC
重叠综合征具有
一定的指导作用。

- 5 Poupon R. Autoimmune overlapping syndromes. *Clin Liver Dis* 2003; 7: 865-878 [PMID: 14594134]
- 6 Rust C, Beuers U. Overlap syndromes among autoimmune liver diseases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3368-3373 [PMID: 18528934]
- 7 Czaja AJ. Overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis: a foray across diagnostic boundaries. *J Hepatol* 2006; 44: 251-252 [PMID: 16360230]
- 8 朱疆依, 周新民, 王建宏, 王瑞安, 黄晓峰, 韩者艺, 陈瑜, 韩英. 两种诊断标准诊断原发性胆汁性肝硬化-自身免疫性肝炎重叠综合征的比较. *中华肝病杂志* 2011; 19: 132-133
- 9 王娟, 唐红. 自身免疫性肝炎/原发性胆汁性肝硬化重叠综合征误诊为药物性肝炎1例. *华西医学* 2010; 25: 2062-2063
- 10 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2011; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 11 胆汁淤积性肝病诊断治疗委员会. *中华实验和临床感染病杂志* 2009; 3: 474-487
- 12 Jothamani D, Cramp ME, Mitchell JD, Cross TJ. Treatment of autoimmune hepatitis: a review of current and evolving therapies. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 619-627 [PMID: 21073674 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06579.x]
- 13 Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Saitoh S, Tsubota A, Suzuki F, Kobayashi M, Akuta N, Someya T, Miyakawa Y, Kumada H. Clinical and pathological characteristics of the autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 699-706 [PMID: 15151627]
- 14 Muratori P, Granito A, Quarneti C, Ferri S, Menichella R, Cassani F, Pappas G, Bianchi FB, Lenzi M, Muratori L. Autoimmune hepatitis in Italy: the Bologna experience. *J Hepatol* 2009; 50: 1210-1218 [PMID: 19395113 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.01.020]
- 15 楚金东, 朱疆依, 高正军, 朱绍华, 董旭炀, 韩者艺, 时永全, 周新民, 韩英. 自身免疫性肝炎和原发性胆汁性肝硬化重叠综合征的临床特征及疗效观察. *临床肝胆病杂志* 2012; 28: 343-348
- 16 Teufel A, Galle PR, Kanzler S. Update on autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1035-1041 [PMID: 19266594]
- 17 曹忆嵘, 郭津生, 彭利军, 欧阳阳阳, 王吉耀. 52例自身免疫性肝炎的临床特点及其治疗. *肝脏* 2012; 17: 6-10
- 18 韩善乐, 张君利. 自身免疫性肝病158例临床分析. *中国医药科学* 2012; 2: 42-44, 54
- 19 涂传涛, 韩冰, 张顺财. PBC-AIH重叠综合征临床与病理特征: 一项回顾性研究. *胃肠病学及肝脏病学杂志* 2010; 19: 166-169
- 20 汪嘉莉, 姚云清, 张林, 王松, 邓金华, 甘晓辉. 190例自身免疫性肝病临床特征分析. *临床内科杂志* 2012; 29: 739-741
- 21 高冀蓉, 乔玲, 李侗曾, 刘旭华, 王颖, 孟忻, 侯维, 李卓, 陈义森. 原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎重叠综合征患者的临床特征分析. *中国综合临床* 2006; 22: 797-799
- 22 蔡少平, 刘泽. 自身免疫性肝炎-原发性胆汁性肝硬化重叠综合征的临床病理研究. *实用肝脏病杂志* 2007; 10: 234-236
- 23 马欢, 张洁王, 邦茂. 原发性胆汁性肝硬化-自身免疫性肝炎重叠综合征44例临床特点及疗效分析. *中华消化杂志* 2012; 32: 236-240
- 24 吴欣, 孙永强, 宫嫂, 张伎, 刘虹虹, 张宁, 宋雪艾, 罗生强. 原发性胆汁性肝硬化/自身免疫性肝炎重叠综合征28例临床和病理学分析. *实用肝脏病杂志* 2013; 16: 53-55
- 25 Dienes HP, Erberich H, Dries V, Schirmacher P, Lohse A. Autoimmune hepatitis and overlap syndromes. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 349-362, vi [PMID: 12122860]
- 26 Guindi M. Histology of autoimmune hepatitis and its variants. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 577-590 [PMID: 21055683 DOI: 10.1016/j.cld.2010.07.003]
- 27 Carpenter HA, Czaja AJ. The role of histologic evaluation in the diagnosis and management of autoimmune hepatitis and its variants. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 685-705 [PMID: 12362575]
- 28 Beuers U, Rust C. Overlap syndromes. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 311-320 [PMID: 16143946]
- 29 Schramm C, Lohse AW. Overlap syndromes of cholestatic liver diseases and auto-immune hepatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2005; 28: 105-114 [PMID: 15879617]
- 30 Trivedi PJ, Chapman RW. PSC, AIH and overlap syndrome in inflammatory bowel disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 420-436 [PMID: 22306055 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.007]

编辑 田滢 电编 闫晋利



3D技术指导下个体化肝静脉分型及其在肝脏肿瘤切除中的应用

陈铁军, 唐云强, 唐辉, 江鹏

陈铁军, 唐云强, 唐辉, 江鹏, 广州医科大学附属肿瘤医院肝胆肿瘤外科 广东省广州市 510095

陈铁军, 主治医师, 讲师, 主要从事肝胆胰脾肿瘤的临床和基础研究。

作者贡献分布: 此课题由陈铁军与唐云强设计; 研究过程由陈铁军、唐云强、唐辉及江鹏完成; 数据分析由陈铁军、唐辉及江鹏完成; 本论文写作由陈铁军完成。

通讯作者: 陈铁军, 讲师, 主治医师, 510095, 广东省广州市越秀区麓湖路横枝岗78号, 广州医科大学附属肿瘤医院肝胆肿瘤外科。ctjzmf@163.com

电话: 020-66673655

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

3D imaging-guided individualized hepatic vein typing: Application to liver tumor resection

Tie-Jun Chen, Yun-Qiang Tang, Hui Tang, Peng Jiang

Tie-Jun Chen, Yun-Qiang Tang, Hui Tang, Peng Jiang, Department of Hepatobiliary Surgery, Cancer center of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510095, Guangdong Province, China

Correspondence to: Tie-Jun Chen, Lecturer, Attending Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Cancer center of Guangzhou Medical University, 78 Hengzhigang Luh Road, Yuexiu District, Guangzhou 510095, Guangdong Province, China. ctjzmf@163.com

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To conduct 3D imaging-guided individualized typing of hepatic veins to provide a basis for digitalized liver segment resection.

METHODS: Fifty hospitalized liver cancer patients who underwent 64-row spiral CT preoperatively were included. 3D reconstruction of the liver was performed to observe the variation of reconstructed hepatic veins and typing them.

RESULTS: Hepatic veins were overall classified into two types: A (27/50, 54%) and B (23/50, 46%). The right hepatic vein were classified into four types: A: (36/50, 72%), B (10/50, 20%), C (2/50, 4%), and D (2/50, 4%). The right hepatic

vein was classified into four subtypes: I (17/50, 34%), II (28/50, 56%), III (3/50, 6%), and IV (4/50, 8%). The middle hepatic vein was classified into three types: A (39/50, 78%), B (10/50, 20%), and C (1/50, 2%). The left hepatic vein was classified into two types: A (41/50, 82%) and B (9/50, 18%).

CONCLUSION: 3D imaging-guided individualized hepatic vein typing can help retain more normal liver tissue and reduce the occurrence of postoperative complications in liver surgery.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic veins; Anatomy; Liver resection; 3D imaging

Chen TJ, Tang YQ, Tang H, Jiang P. 3D imaging-guided individualized hepatic vein typing: Application to liver tumor resection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3479-3485 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3479.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3479>

摘要

目的: 研究3D技术指导下个体化肝静脉分型, 改变传统肝段切除肿瘤的方法为个体化、数字化切除。

方法: 收集50例因肝癌住院患者术前64排螺旋CT数据, 运用三维重建软件进行肝脏三维重建, 观察重建后的肝静脉的变异情况并对其分型, 指导肝癌个体化切除。

结果: 肝静脉总体分型: A型: 54.0%(27/50), B型: 46.0%(23/50)。肝右静脉分型: A型: 72.0%(36/50), B型: 20.0%(10/50), C型: 4.0%(2/50), D型: 4.0%(2/50)。肝右静脉亚型: I型: 34.0%(17/50), II型: 56.0%(28/50), III型: 6.0%(3/50), IV型: 8.0%(4/50)。肝中静脉分型: A型: 78.0%(39/50), B型: 20.0%(10/50), C型: 2.0%(1/50)。肝左静脉分型: A型: 82.0%(41/50), B型18.0%(9/50)。

■背景资料

肝脏部分切除术后由于肝静脉引流肝脏血液不畅而引发的严重后果被证明后人们才逐渐对肝静脉引流的重要性有所认识。保证维持足够的静脉引流是公认的减少术后肝功能不全发生的有效措施之一。因此, 术前对患者肝静脉个体化变异情况的了解对手术方案的制订、最大限度保留正常肝组织、减少术后并发症的发生有重要意义。

■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科); 徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科; 汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

■ 研发前沿

运用三维重建系统对肝脏肿瘤患者肝脏行三维重建,从而指导肝脏肿瘤的术前诊断和手术规划,改进了肝脏肿瘤疾病的传统诊断方式,对肝内管道系统的进一步研究使我们在手术规划时能将更多正常肝组织保留,减少术后并发症的发生,具有显著的临床应用价值。

结论:通过对肝静脉三维成像,对肝静脉的变异进行分型,对于肝脏手术中可保留更多正常肝组织,减少术后并发症的发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝静脉; 解剖; 肝切除; 三维成像

核心提示: 肝静脉是肝脏重要的回流通路,手术保证肝静脉通畅是公认的减少术后肝功能不全发生的有效措施之一。对于肝静脉类型的研究无论在基础和临床肝癌手术中均有重要意义。

陈铁军, 唐云强, 唐辉, 江鹏. 3D技术指导下个体化肝静脉分型及其在肝脏肿瘤切除中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3479-3485 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3479.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3479>

0 引言

在肝肿瘤完整切除的前提下,保留尽量多的正常肝组织,一直是肝胆外科医生追求的目标。有资料表明肝脏切除范围越大、出血量越多、手术时间越长对术后肝功能的损害越明显。肝切除率与肝脏再生能力呈负相关,而与术后肝功损害呈正相关^[1]。肝静脉是肝血液的流出道,一旦发生阻塞,相应出现肝淤血、肝肿大等改变,继而影响肝功能。避免肝静脉流出道梗阻,保证足够的静脉引流是减少术后肝功能不全的有效措施之一。术中通常会切除病变部位周围部分正常的肝组织,以防术后这部分正常肝组织淤血、坏死。肝硬化的患者,为防止术后肝衰竭,需要尽可能多保留周围正常的肝组织,以防止残余肝脏储备功能不足,但扩大切除范围又加大了肝脏衰竭的风险。因此,术前掌握患者肝静脉走行对手术方案的制订、最大限度保留正常肝组织、减少并发症有重要意义。本研究采用基于64排螺旋计算机断层扫描(computed tomography, CT)数据进行三维重建,观察重建后的肝静脉的变异情况并对其分型,为肝脏肿瘤切除提供解剖学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01-01/2012-01-01于广州医科大学附属肿瘤医院行上腹部64排螺旋CT增强扫描并确诊肝癌的50例患者的CT图像数据(所有患者均签订知情同意书,经广州医科大学医学伦理委员会批准,符合医疗护理操作常规)。入选标准: 其中男42例,女8例,年龄20-78岁,平均52岁。肝硬化Child-Pugh分级A-B级、肿瘤

直径5-12 cm不等、肿瘤数目为1个的患者30例,2-3个的患者12例,3个以上的8例。包膜完整21例。肿瘤位于肝左叶者17例,位于肝右叶者33例,原发性肝癌患者40例,转移性肝癌患者10例。预计生存期超过3 mo。血常规、肾功能、心电图正常或接近正常,部分病例临床有乏力、食欲不振、消化不良、恶心、呕吐等不适,部分病例有黄疸、消化道出血病史,实验室检测指标提示转氨酶升高或不升高、胆红素升高或无变化、乙型肝炎、或者丙型肝炎表面抗原阳性或阴性,或者有长期饮酒史, B超、CT检查提示“肝脏占位”。肝内血管显示良好者为研究对象。剔除标准: 有X线检查禁忌证、对造影剂过敏者,CT检查肝内血管显示不良者。

1.2 方法 CT数据收集及研究设备、影像学扫描参数、数据采集方法详见参考文献[2-4]。图像三维重建: 将数据导入个人计算机,利用DICOM图片查看器将原始数据的格式转化为JPG格式;利用ACDSee5.0软件调整图片大小并转换为24位深度BMP格式;导入三维系统进行程序分割重建,并输出后缀为STL的格式文件;将STL模型导入到FreeForm Modeling System进行去噪、平滑、配色等处理后即可显示重建肝静脉模型。观测肝静脉和其主要分支,对肝静脉变异进行分型统计。

2 结果

50例患者术中肝静脉走行情况与术前三维重建情况一致,均行手术肝癌切除,手术过程顺利,术后恢复好出院。结合肝静脉显示情况,提出个体化肝静脉分型方法: 总体变异与分型(图1): A型: 左、中、右三支肝静脉分别单独汇入下腔静脉; B型: 肝左静脉(left hepatic veins, LHV)和肝中静脉(middle hepatic vein, MHV)合成短干后再汇入下腔静脉。肝右静脉变异与分型(图2): A型: 此型最常见,是一个主干和若干小分支; B型: 肝右静脉为一短干,伴有粗大的肝中静脉起代偿作用; C型: 细小的肝右静脉伴有一较粗大的直接汇入下腔静脉的右后下静脉(inferior right hepatic veins, IRHV); D型: 细小的肝右静脉伴有一支细小的直接注入下腔静脉的副肝右静脉(accessory right hepatic vein, ARHV)。肝右静脉属支变异与肝右静脉的亚型(图3): 主要观察肝右静脉是否在根部即开始分支及分支的数目: I型: 肝右静脉在早期根部无大的分支,仅有一个主干注入下腔静脉; II型: 肝右静

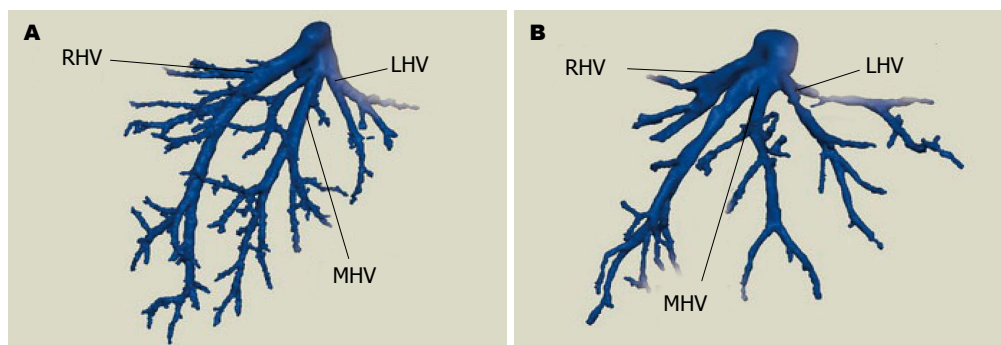


图 1 肝静脉总体变异与分型. A: A型; B: B型. RHV: RHV: 肝右静脉; MHV: 肝中静脉; LHV: 肝左静脉.

■ 相关报道

目前三维重建技术已经广泛应用于整形外科、骨科、腹部外科、肝移植科等多学科研究, 三维重建的图像直观、立体、形象, 在临床疾病诊治中发挥着重要的作用.

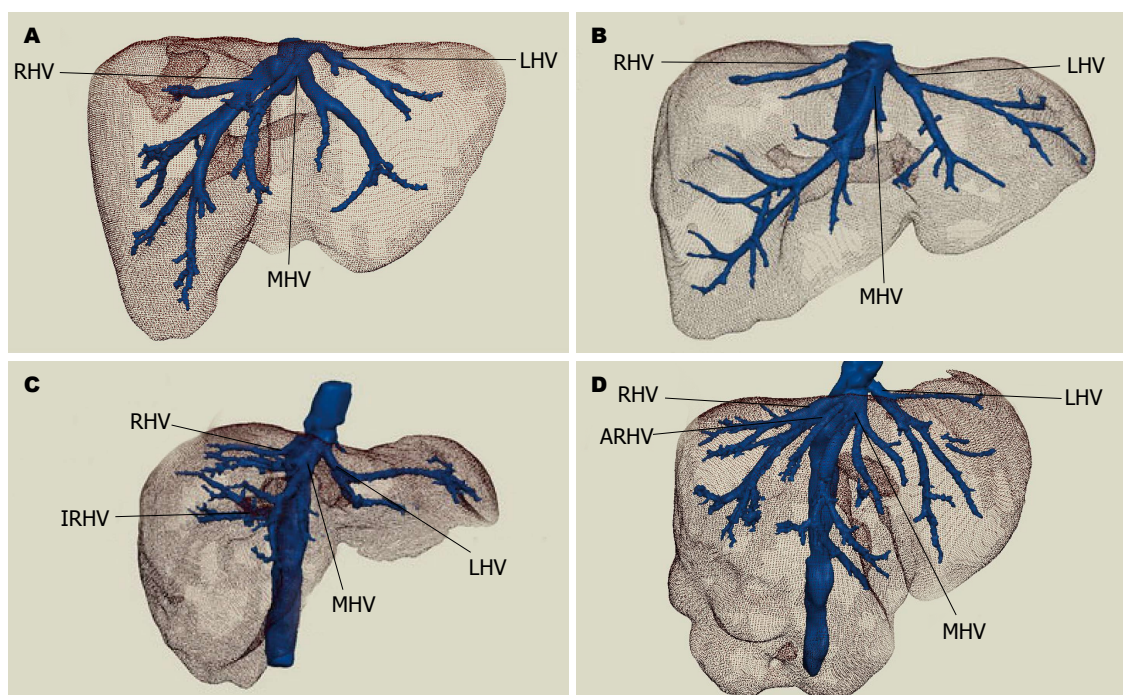


图 2 肝右静脉变异与分型. A: A型; B: B型; C: C型; D: D型. RHV: RHV: 肝右静脉; MHV: 肝中静脉; LHV: 肝左静脉; ARHV: 副肝右静脉; IRHV: 右后下静脉.

脉为一个主干, 并在早期分成两个粗细差异不大属支; III型: 肝右静脉在下腔静脉根部分成两个粗细差异不大属支; IV型: 肝右静脉在下腔静脉根部分成两个粗细差异不大属支, 其中一个属支再分成两个粗细差异不大分支. 肝中静脉变异与分型(图4): A型: 此型最常见, 肝中静脉仅有一个主干和若干小分支; B型: 出现汇入肝中静脉的IV段静脉; C型: 出现直接汇入下腔静脉的IV段静脉. 肝左静脉变异与分型(图5): A型: 此型最常见, 为肝左静脉仅有一个主干和若干小分支; B型: 出现汇入肝左静脉的4段静脉. 按上述的分型方法, 本次研究的50例肝脏肿瘤肝静脉变异及分型结果如下: 总体分型: A型: 54.0%(27/50), B型: 46.0%(23/50). 肝右静脉分型: A型: 72.0%(36/50), B型: 20.0%(10/50), C

型: 4.0%(2/50), D型: 4.0%(2/50). 肝右静脉亚型: I型: 34.0%(17/50), II型: 56.0%(28/50), III型: 6.0%(3/50), IV型: 8.0%(4/50). 肝中静脉分型: A型: 78.0%(39/50), B型: 20.0%(10/50), C型: 2.0%(1/50). 肝左静脉分型: A型: 82.0%(41/50), B型18.0%(9/50).

下面举例说明肝静脉个体化分型的临床应用: 病例1, 患者张某, 术前三维重建显示肝中静脉早期分成大小差异不大的两支(图6A), 且肝右静脉被肿瘤组织侵犯(图6B), 难以按Couinaud法将肝脏分段. 根据肝静脉变异和肿瘤位置、大小形态等决定个体化分段方式(图6C).

病例2, 患者林某, 肿瘤位于肝脏VII、VIII段, 存在优势的肝右后下静脉, 可以供应VI段肝脏(图7A), 在肝肿瘤切除时, 行保留VI段的精准肝

■创新盘点

通过三维重建研究肝静脉走行、分型及对肝肿瘤切除行规划目前国内文献相关报道较少。

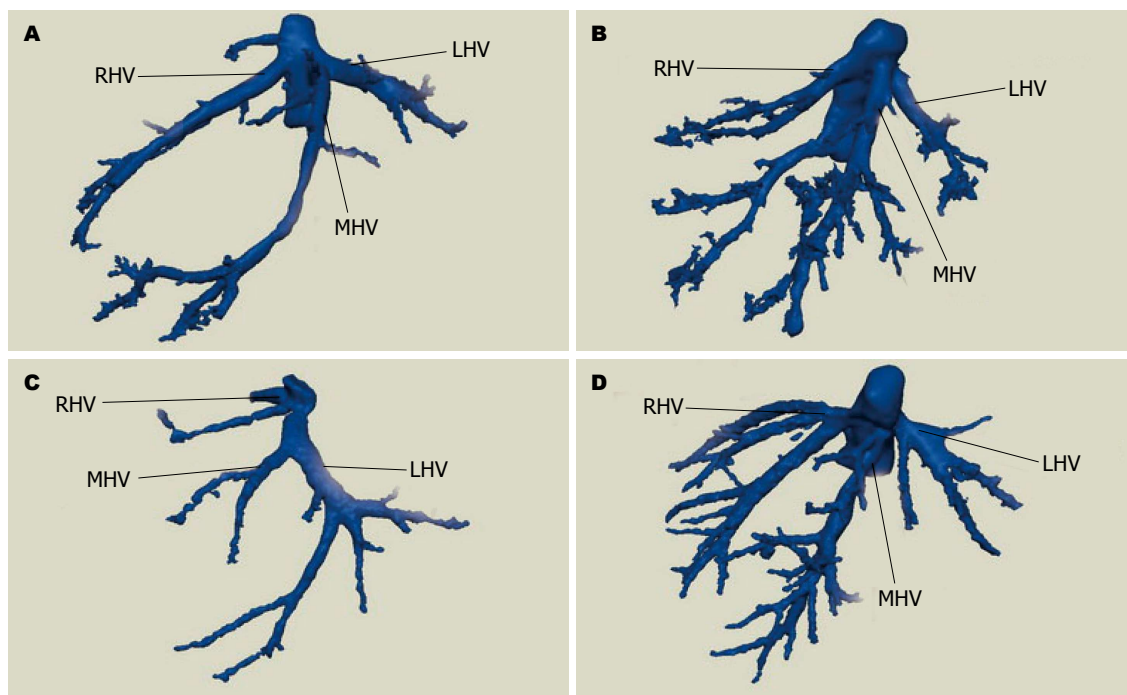


图3 肝右静脉的亚型. A: I型; B: II型; C: III型; D: IV型. LHV: 肝左静脉; MHV: 肝中静脉; RHV: 肝右静脉.

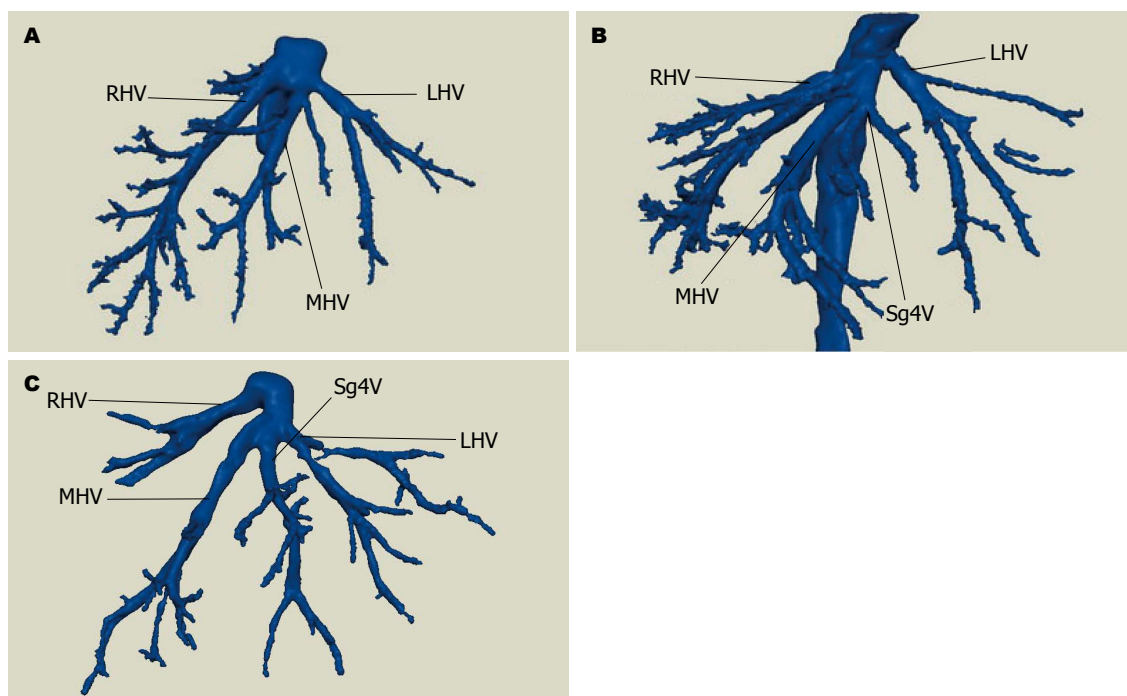


图4 肝中静脉的变异与分型. A: A型; B: B型; C: C型. LHV: 肝左静脉; MHV: 肝中静脉; RHV: 肝右静脉.

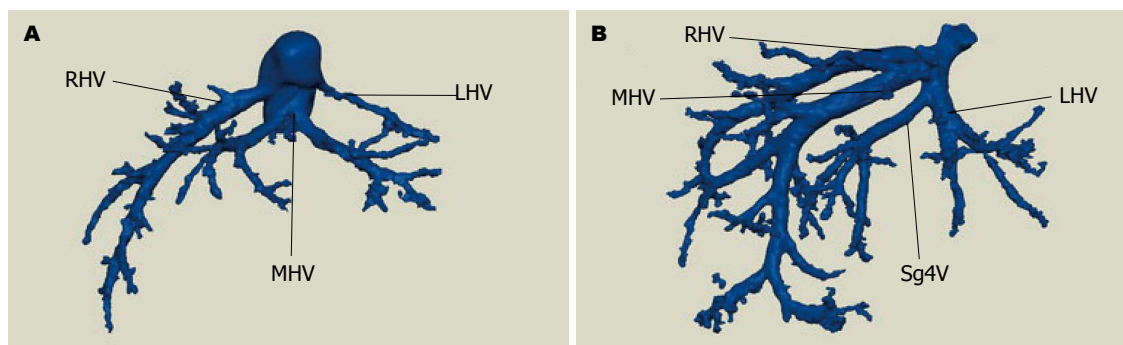
癌切除是可行的. 肝中静脉分出优势的Ⅷ段肝静脉血管(图7C), 在钳夹主肝静脉时, 也要注意钳夹Ⅷ段肝静脉血管(图7D), 钳夹肝右后下静脉(图7B), 减少术中出血和防止癌细胞转移. 减轻肝功损害程度, 改善预后.

病例3, 患者王某, 术前三维重建显示肿瘤切除前的肝静脉变异: 存在汇入肝中静脉的Ⅳ段

静脉(图8A), 右半肝切除时可切除肝中静脉, 三维重建显示肿瘤切除后Ⅳ段静脉可较好地回流肝Ⅳ段血液(图8B).

3 讨论

在肝胆外科手术中, 肝脏的血液回流是制约肝脏手术的重要因素. 多少年来外科医生一直期



应用要点
三维重建应用于术前手术方式选择及手术风险评估, 还可以应用于教学。

图 5 肝左静脉的变异与分型. A: A型; B: B型. LHV: 肝左静脉; MHV: 肝中静脉; RHV: 肝右静脉。

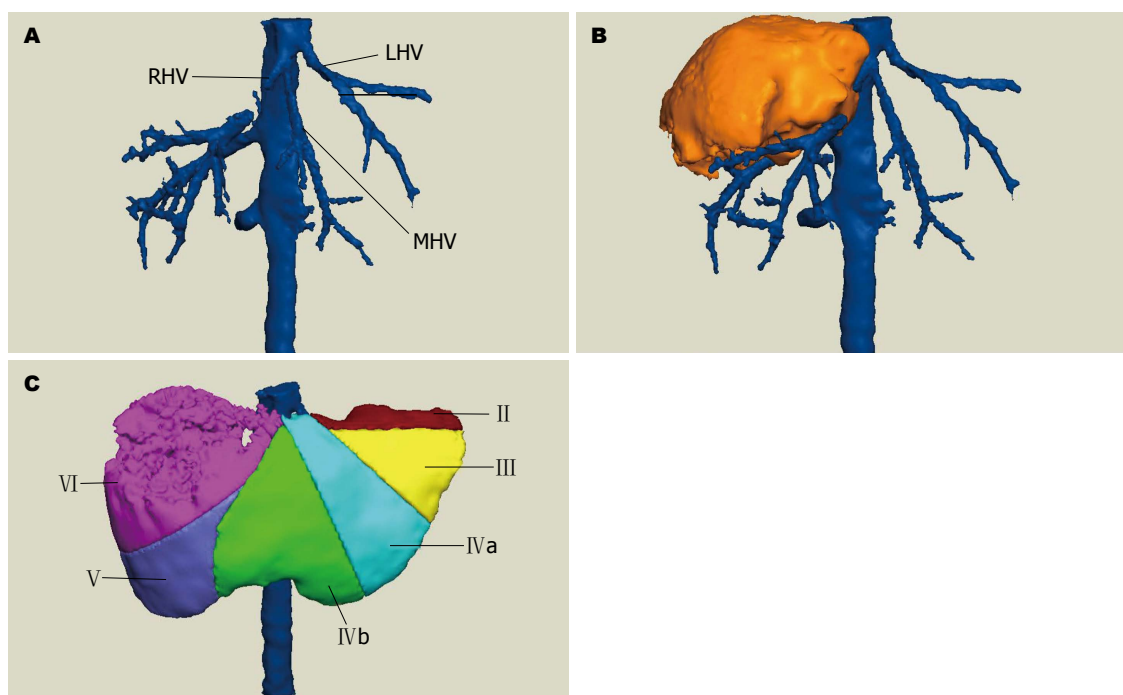


图 6 病例1. A: 三维重建显示肝中静脉早期分成大小差异不大的两支; B: 肝右静脉被肿瘤组织侵犯; C: 肝脏个体化分6段. LHV: 肝左静脉; MHV: 肝中静脉; RHV: 肝右静脉。

望在术前就能对肝脏内部血管的走行及其与肝内病灶的关系有直观的了解. 肝脏内管道复杂, 最早关于肝静脉的研究来源于尸体解剖学和肝脏铸型标本的观察研究^[5,6], 解剖学研究受限于尸体来源困难, 铸型标本则很难任意多角度立体观察. 随着技术进步, B超、DSA、CT、MR等影像设备的应用逐步加入肝静脉的研究中^[7-12]. 与其他检查方法比较彩色多普勒超声存在一定的假阳性和假阴性率, 数字减影是有创的检查方法, 有一定的并发症发生率和死亡率. MR可以成功地显示肝动脉, 但是采集门静脉和肝静脉的信号时时相已经滞后, 对比剂开始廓清, 降低了门静脉和肝静脉的强化程度^[13].

肝脏肿瘤患者往往合并有肝硬化等, 增加了术后诱发肝衰的风险. 因此, 对肝静脉的走行

特点进行归纳总结非常重要. 对肝静脉进行分型、在复杂手术中使用合理的肝静脉阻断技术, 在术中最大限度地保留正常肝组织, 是肝脏外科一个研究热点^[14-16]. 根据肝静脉汇入下腔静脉的方式进行分型是肝静脉分型的标准^[17], 现已有运用CT和三维成像研究活体肝移植中肝静脉的报导^[18].

1957年Couinaud^[19]以Glisson系统在肝内分布为基础提出Couinaud分段法, 并逐渐在亚洲和欧洲普及, 依据功能解剖学将肝脏分为8个独立段, 该分段方法以肝裂和门静脉及肝静脉在肝内分布为基础, 肝右静脉将肝脏分为右前段和右后段, 肝中静脉将肝脏分为左半叶和半右叶(或者说右半肝和左半肝)此面从下腔静脉到胆囊窝通过, 肝左静脉将肝左叶分为内侧段和外

同行评价

本文比较新颖, 具有一定指导意义.

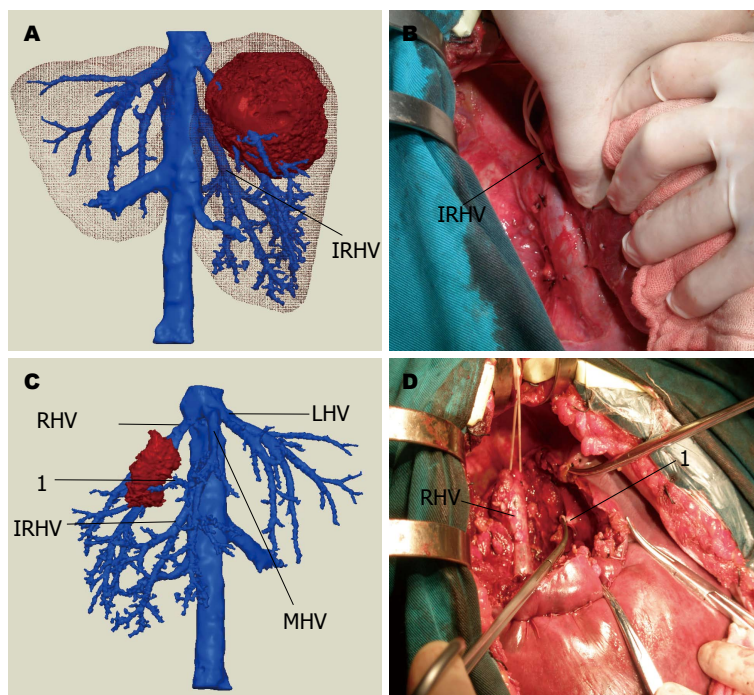


图 7 病例2. A: 术前三维重建示在肝右后叶存在肝右后下静脉(肝右静脉分型的C型); B: 术中游离肝右后叶时钳夹肝右后下静脉; C: 数字1的位置为肝中静脉发向肿瘤的分支; D: 术中钳夹肝中静脉发向肿瘤的分支.

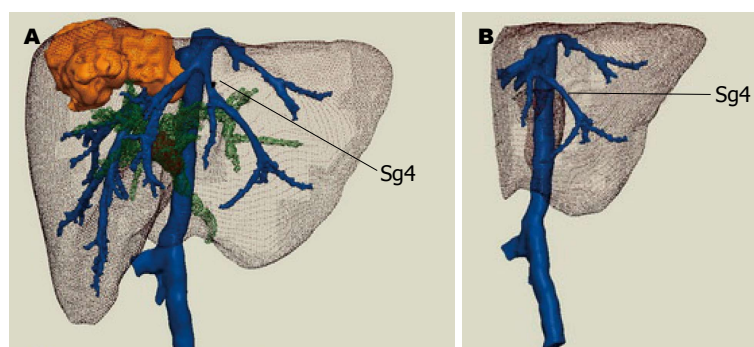


图 8 病例3. A: 存在汇入肝中静脉的IV段静脉, 右半肝切除时可切除肝中静脉; B: 三维重建显示肿瘤切除后IV段静脉可较好地回流肝IV段血液.

侧段. 门静脉将肝脏分为上、下段, 左、右门静脉发出上、下分支分别进入每段的中心. 每个肝段分别用罗马数字 I - VIII 标记, I 段: 尾状叶; II 段: 左外叶上段; III 段: 左外叶下段; IV 段: 左内叶(Bismuth 分类法第4段又分为4a和4b段); V 段: 右前叶下段; VI 段: 右后叶下段; VII 段: 右后叶上段; VIII 段: 右前叶上段, 段的编号依据顺时针进行, Couinaud 分段法按顺时针方向将各段编号, 该分段方法实用性强, 每个肝段有独立的流入和流出血管以及胆管系统, 对于CT影像诊断, 外科手术, 有着比较实用的意义和广泛应用, 在活体肝移植中也有重要的应用价值^[20]. 尽管 Couinaud 法描述肝脏解剖在临床上实用性很强, 但其对肝叶和肝段的划分存在着缺陷. 比如说右前叶与右后叶本是前后关系, Couinaud 认为是内外关系, 段 VII 与段 VI 本是上下关系, Couinaud 认为是前后关系等^[21]. 这是因为 Couinaud 法描述肝脏解剖是居于离体肝脏血管铸型的研究结果, 由于肝脏血管壁的塌陷, 肝脏本身立体结构和

空间构象的改变, Couinaud 法确定的肝脏管道, 肝中间裂、右纵裂、右叶间裂等与活体肝的实际解剖情况不尽相符^[22,23], Couinaud 法并不完全精确^[24,25]. 因此, 临床实践中不能完全按照该方法划分肝脏以对肝脏肿瘤进行定位.

21 世纪手术的“精准性”变得越来越重要, 复杂肝切除手术中肝静脉解剖和肝静脉淤血的个体化评估是提高肝切除“精准性”的重要一环^[26]. 肝静脉研究涉及的另外一个重要领域为肝移植, 由于不完全的肝内静脉流出系统所致静脉淤血是活体肝移植术后影响肝功能的重要因素, 为避免其发生, 需要在术前详细了解肝静脉解剖及变异, 并据此制定详细的手术计划, 以保证流出道的通畅^[27,28]. 而在肝移植中对于肝中静脉解剖变异的认识, 将有助于对肝移植中切取供肝体积的判断、切口定位和切剖面的选择及供、受体肝静脉的重建^[29].

一般情况下肝右静脉引流了大部分 VI、VII 段的肝脏血流, 单纯进行肝脏 VII 段的切除会造

成VI段回流障碍, 故肝脏肿瘤切除通常将VI、VII段同时切除. 当存在肝右后下静脉的变异时, 肝右静脉可能仅引流肝VII段的全部, VI段和VIII段的一部分, 结扎肝右静脉不会导致肝VI段的静脉淤血, 故当这些变异时, 可行单独切除VII段而保留VI段的右后叶次全切. 邢雪等^[30]通过保留IRHV从而保存了肝右后叶下段, 并在此基础上提出了4种新的切除RHV而保留IRHV的肝切除方法, 可避免肝功能急性衰竭. 对于存在汇入肝中静脉的IV段静脉, 右半肝切除时可切除肝中静脉而不影响IV段肝脏的代偿.

由于肝脏切除率与肝脏再生能力呈负相关, 而与术后肝功损害呈正相关. 掌握肝脏肿瘤肝静脉的变异与分型能保留一些常规手术被连带切除的肝组织. 术前通过对每个肝脏肿瘤患者进行重建, 可以发现一般影像学难以发现的变异肝静脉, 增强对肝脏肿瘤切除术后并发症的预防能力.

4 参考文献

- 林科灿, 刘景丰, 曾金华, 池国辉, 曾永毅, 黄爱民. 虚拟肝脏手术规划系统预测肝癌肝切除术后肝功能损害的价值. 中华消化外科杂志 2012; 11: 116-119
- 范应方, 方驰华, 项楠, 陈建新. 数字化微创技术在肝胆管结石诊治中的应用研究. 中国普外基础与临床杂志 2011; 18: 688-693
- 方驰华, 周一, 虞春堂, 张刚庆, 钟世镇, 王博亮, 吴坤成. 肝脏管道系统灌注后薄层CT扫描和三维重建的研究. 中华外科杂志 2004; 42: 562-564
- 袁世琨, 方驰华, 杨剑, 范应方, 全显跃, 梁文, 项楠, 唐海亮. 64排螺旋CT诊断肝癌临床价值研究. 中国实用外科杂志 2007; 27: 720-732
- 牛朝诗, 韩卉, 耿小平. 下腔静脉与肝静脉的外科应用解剖. 肝胆外科杂志 1996; 4: 36-39
- 邵初晓. 下腔静脉与肝静脉的外科应用解剖. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 700-701
- 李杨, 杜勇, 杨汉丰, 黄小华. 3D 16-MSCT血管成像对门静脉及肝静脉解剖的研究. 重庆医科大学学报 2008; 33: 1158-1161
- Atri M, Bret PM, Fraser-Hill MA. Intrahepatic portal venous variations: prevalence with US. *Radiology* 1992; 184: 157-158 [PMID: 1609075]
- Sahani D, Mehta A, Blake M, Prasad S, Harris G, Saini S. Preoperative hepatic vascular evaluation with CT and MR angiography: implications for surgery. *Radiographics* 2004; 24: 1367-1380 [PMID: 15371614 DOI: 10.1148/rg.245035224]
- 张龙江, 宋光义, 包颜明, 杨桂芬, 杨亚英, 王克超. 肝脏血管解剖和变异的多层螺旋CT血管成像研究. 中华放射学杂志 2005; 39: 963-966
- 唐敏, 杨尚文, 马一鸣, 栾炜, 何健, 朱斌. 64排螺旋CT扫描数据基础上的门静脉和肝静脉三维解读及其解剖变异分析. 中国临床医学影像杂志 2013; 24: 338-340
- 伍兵, 孙家瑜, 夏春潮, 李昌宪. 非对比剂增强的磁共振血管成像技术对肝静脉显示的初步评价. 四川大学学报(医学版) 2011; 42: 387-391
- 姜滨. 多层螺旋CT对肝静脉的影像学评价. 国外医学临床放射学分册 2006; 29: 40-44
- 汪珍光, 周伟平, 傅思源, 潘泽亚, 杨远, 章璿, 刘辉, 孙汉勇, 吴孟超. 肝腔静脉结合部解剖及其在肝静脉阻断术中的应用. 中国实用外科杂志 2011; 31: 1058-1059
- 周伟平, 李爱军, 傅思源, 潘泽亚, 杨远, 汤靓, 吴孟超. 第二肝门区域肿瘤切除中两种肝血流阻断方法的比较. 中华外科杂志 2007; 45: 591-594
- 周伟平, 李爱军, 傅思源, 潘泽亚, 杨远, 汤靓, 吴孟超. 肝切除术中不同肝静脉阻断方法的比较. 中华普通外科杂志 2007; 22: 888-891
- 王现亮, 董光, 耿海, 王文刚, 李林坤, 高伟, 王荣芳. 肝静脉分型与测量参数的多层螺旋CT研究. 中华放射学杂志 2007; 07: 709-712
- Orguc S, Tercan M, Bozoklar A, Akyildiz M, Gurgan U, Celebi A, Nart D, Karasu Z, Icoz G, Zeytinlu M, Yuzer Y, Tokat Y, Kilic M. Variations of hepatic veins: helical computerized tomography experience in 100 consecutive living liver donors with emphasis on right lobe. *Transplant Proc* 2004; 36: 2727-2732 [PMID: 15621134 DOI: 10.1016/j.transproceed.2004.10.006]
- Couinaud C. *LeFoie: Etudes Anatomiques et Chirurgicales*. Paris: Masson & Cie, 1957: 284-289
- 方驰华, 朱新勇. 现代肝脏局部解剖在活体部分肝移植应用的研究进展. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1576-1580
- 刘学静. 多层螺旋CT门静脉成像及其在肝脏解剖分段中的应用. 医学影像学杂志 2002; 12: 398-400
- Ohashi I, Ina H, Okada Y, Yoshida T, Gomi N, Himeno Y, Hanafusa K, Shibuya H. Segmental anatomy of the liver under the right diaphragmatic dome: evaluation with axial CT. *Radiology* 1996; 200: 779-783 [PMID: 8756931]
- 朱江帆, 徐林根, 傅贤波. 2003年全国微创外科新进展学术研讨会学术总结. 中国微创外科杂志 2003; 3: 547-549
- Thompson EC, Grier JF, Gholson CF, McDonald JC. A critical review of the Couinaud technique of hepatic resection. *Arch Surg* 1995; 130: 553-559 [PMID: 7748097 DOI: 10.1001/archsurg.1995.01430050103018]
- Rieker O, Mildenerberger P, Hintze C, Schunk K, Otto G, Thelen M. [Segmental anatomy of the liver in computed tomography: do we localize the lesion accurately?]. *Rofö* 2000; 172: 147-152 [PMID: 10723488 DOI: 10.1055/s-2000-10505]
- 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除-21世纪肝脏外科新理念. 中华外科杂志 2009; 47: 1601-1605
- 沈文, 程悦, 谢春, 祁吉. 活体肝移植术前MSCT评估肝静脉. 中国医学影像技术 2009; 25: 1215-1217
- 蔡维广, 刘中波, 杨得君. 肝左静脉在活体肝移植中的临床应用解剖. 吉林医学 2006; 27: 778-779
- 徐卫东, 王德广. 肝中静脉的应用解剖学研究. 济宁医学院学报 2012; 35: 177-181
- 邢雪, 李洪, 刘卫国. 肝脏右后下静脉的临床研究. 中华肝胆外科杂志 2005; 11: 279

编辑 田滢 电编 闫晋利



溃疡性结肠炎患者的生存质量分析176例

李孝镇, 唐志鹏, 谢建群

■背景资料

近年来, 生存质量的研究逐渐成为研究热点。国内外相关研究显示, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者的生存质量明显低于正常人群, 在生理、心理、社会等各方面受到影响。而国内发病率持续升高当中, 但相关研究较少。

李孝镇, 唐志鹏, 谢建群, 上海中医药大学附属龙华医院消化科 上海市 200032

李孝镇, 主要从事消化系疾病的临床研究。

作者贡献分布: 唐志鹏与谢建群负责课题设计、结果分析及论文审阅; 李孝镇负责临床调查、统计分析及论文撰写。

通讯作者: 唐志鹏, 主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化科。

zhipengtang@sohu.com

电话: 021-64385700

收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-08-29

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Analysis of quality of life in 176 patients with ulcerative colitis

Xiao-Zhen Li, Zhi-Peng Tang, Jian-Qun Xie

Xiao-Zhen Li, Zhi-Peng Tang, Jian-Qun Xie, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Correspondence to: Zhi-Peng Tang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. zhipengtang@sohu.com

Received: 2013-05-08 Revised: 2013-08-29

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To investigate the quality of life (QoL) in patients with ulcerative colitis (UC).

METHODS: The inflammatory bowel disease questionnaire (IBDQ) and the short form 36 health survey questionnaire (SF-36) were used to assess QoL in patients with UC. Clinical characteristics including sex, age, smoking, course of disease, extent of disease, clinical type, colonoscopic grade, clinical stage, and severity of disease were analyzed.

RESULTS: The mean IBDQ score was 164.1 ± 29.7 and mean SF-36 score was 61.1 ± 18.2 in patients with UC. QoL in patients with UC was significantly associated with sex, clinical stage and severity of disease (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: IBDQ and SF-36 scores decrease in patients with UC. Bowel symptoms and body

pain are main factors affecting QoL, which can influence the physical, mental health and social function. There are close associations between QoL and sex, clinical stage, and severity of disease.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Quality of life; Inflammatory bowel disease questionnaire; Short form 36 health survey questionnaire

Li XZ, Tang ZP, Xie JQ. Analysis of quality of life in 176 patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3486-3492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3486.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3486>

摘要

目的: 调查溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者生存质量状况, 并分析其影响因素。

方法: 应用炎症性肠病生存质量问卷(inflammatory bowel disease questionnaire, IBDQ)与健康调查简表中文版简表(short form 36 health survey questionnaire, SF-36)调查UC患者生存质量, 并且分析性别、年龄、吸烟、病程、病变部位、肠镜分级、临床类型、病情分期、病情严重程度因素。

结果: (1)IBDQ总分平均为 164.1 ± 29.7 分, SF-36总分平均为 61.1 ± 18.2 分; (2)性别、病情分期以及病情严重程度不同的人群之间生存质量有统计学差异($P < 0.05$)。

结论: (1)UC患者的生存质量均有所下降, 以肠道症状、躯体疼痛为主要影响因素, 继而可影响全身、精神健康以及社会功能; (2)UC患者的生存质量与性别、病情分期和病情严重程度等因素相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 生存质量; 炎症性肠病生存质量问卷; 健康调查简表SF-36

■同行评议者

范恒, 教授, 主任医师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科

核心提示: 本文应用炎症性肠病生存质量问卷(inflammatory bowel disease questionnaire)与SF-36生存质量量表, 调查、分析溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者生存质量及其影响因素。结果发现UC患者的生存质量下降, 并以肠道症状、躯体疼痛为主要影响因素, 继而可影响全身、精神健康以及社会功能。UC患者的生存质量与性别、病情分期和病情严重程度等因素相关。

李孝镇, 唐志鹏, 谢建群. 溃疡性结肠炎患者的生存质量分析176例. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3486-3492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3486.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3486>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)为发病机制尚未明确的慢性肠道疾病, 以腹泻、黏液脓血便、里急后重、腹痛等为主要临床表现。近年来由于饮食、生活习惯以及环境的改变, 中国的UC发病率亦随之升高^[1]。又因UC病程缠绵、难以治愈、反复发作、医疗费用昂贵等特点, 对患者的躯体、心理、社会等多方面发生了影响, 从而损害其生存质量。本研究拟采用生存质量量表调查UC患者生存质量状况, 并且分析其影响因素。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-11/2012-03上海中医药大学附属龙华医院消化科门诊与住院部收集符合溃疡性结肠炎诊断标准的患者176例。诊断标准参照2007年中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组的《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[2]。

1.2 方法

1.2.1 生存质量量表: 生存质量量表采用疾病特异性量表与普适性量表各1种。炎症性肠病生存质量问卷(inflammatory bowel disease questionnaire, IBDQ)为加拿大的Guyatt等^[3]学者制定的炎症性肠病生存质量问卷。IBDQ共有4个方面32个问题, 总分为4个维度得分的平均值, 其范围在32-224分之间, 分数越高, 表示生存质量越好。

健康调查简表中文版简表(short form 36 health survey questionnaire, SF-36), 由美国医学结局研究组(medical outcomes study, MOS)研制的普适性生存质量量表。SF-36量表包括8个维度36个问题, 总分为8个维度得分的平均值, 其范围在0-100分之间, 分数越高, 表示生存质量越好。

1.2.2 调查时机与方法: (1)采取面对面调查方式为主; (2)研究者对被调查者解释本调查的目的与意义, 经过被调查者同意后签署知情同意后, 方能进行调查; (3)每份问卷约30 min以内完成。

1.2.3 评价临床特征: 收集患者性别、年龄、吸烟、病程、病变部位、肠镜分级、临床类型、病情分期、临床严重程度等资料。

统计学处理 生存质量量表IBDQ与SF-36的计算, 根据其各计分方法计算各维度的得分及其总分, 以mean±SD表示。采用SPSS18.0统计分析软件, 符合正态分布则采用 t 检验; 两样本均数比较采用两个独立样本 t 检验, 多样本比较采用方差分析; 不符合正态分布则采用非参数检验; 构成比采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UC患者的生存质量状况

2.1.1 IBDQ得分: 176例UC患者IBDQ总分在86-220分之间, 平均为164.1分±29.7分。IBDQ各维度得分如表1。

2.1.2 SF-36得分: 176例UC患者SF-36总分在18.8-94.3分之间, 平均为61.1分±18.2分。SF-36各维度得分如表2。

2.2 UC患者临床特征与生存质量

2.2.1 性别: 男女之间的IBDQ无明显统计学差异($P>0.05$); 在SF-36躯体功能维度平均得分分别为87.6分±13.0分、82.9分±16.5分, 显示女性得分低于男性, 并且差异有统计学意义($P<0.05$), 其余的各维度之间无明显统计学差异($P>0.05$)。

2.2.2 年龄: 共分为8个不同年龄组别, 其组别之间的SF-36及IBDQ各维度及其总分均无明显统计学差异($P>0.05$)。

2.2.3 吸烟: 吸烟者与非吸烟者之间, IBDQ无明显统计学差异($P>0.05$)。而两组之间SF-36的躯体角色维度平均得分分别为49.4分±43.2分、79.2分±35.1分, 吸烟者得分低于非吸烟者, 具有统计学意义($P<0.05$), 其余维度无明显差异($P>0.05$)。

2.2.4 病程: 病程分组: 病程≤6 mo、6 mo<病程≤12 mo、12 mo<病程≤24 mo、24 mo<病程≤36 mo、36 mo<病程≤48 mo、48 mo<病程≤60 mo、60 mo<病程≤120 mo、病程>120 mo。不同病程组之间IBDQ与SF-36各维度及其总分均无明显统计学差异($P>0.05$)。

2.2.5 病变部位与肠镜分级: 病变部位分为直肠

■研究前沿

UC反复发作、病程缠绵, 患者受疾病本身痛苦外, 同时在心理、社会等各方面发生了影响, 从而导致生存质量的下降。因此, UC疗效评估中, 生存质量的评价逐渐成为重要指标, 具有临床意义。

■ 相关报道

Pizzi研究发现UC患者的心理、情感因素与疾病活动指数密切相关。Mittermaier跟踪IBD患者18 mo,发现焦虑、抑郁等情绪影响IBD患者的生存质量,并恶化IBD患者的病情。Bitton研究中发现患者近期对生活的压力感与疾病复发的时间密切相关。由此可见,情感因素在UC的疾病过程中具有重要意义。

表 1 IBDQ各维度及总分得分

IBDQ	Min	Max	mean ± SD
肠道症状	31	70	54.3 ± 9.4
全身症状	10	35	23.4 ± 5.3
情感功能	30	83	60.1 ± 12.3
社会功能	9	35	26.2 ± 6.4
总分	86	220	164.1 ± 29.7

IBDQ: 炎症性肠病生存质量问卷。

表 2 SF-36各维度及总分得分

SF-36	Min	Max	mean ± SD
躯体功能	20	100	85.5 ± 14.8
躯体角色	0	100	51.4 ± 43.2
躯体疼痛	30	100	60.8 ± 22.3
一般健康状况	5	97	43.6 ± 18.7
生命力	0	100	58.0 ± 18.3
社会功能	12.5	100	72.9 ± 24.4
情感角色	0	100	52.3 ± 42.7
心理健康	16	100	64.3 ± 17.3
总的躯体健康	21.2	92.4	59.8 ± 17.4
总的心理健康	12.9	91.6	58.2 ± 18.9
总分	18.8	94.3	61.1 ± 18.2

型、左半结肠型及广泛型3大类。不同病变部位的IBDQ、SF-36均无明显统计学意义($P>0.05$)。肠镜分级分为轻、中、重度,其中,重度者仅有4例,故未予统计学分析。而轻度与中度之间,IBDQ与SF-36各维度及其总分之间无统计学差异($P>0.05$)。

2.2.6 临床类型: 将UC分为慢性复发型、慢性持续型、暴发型和初发型。本组病例中无暴发型患者。不同临床类型之间,IBDQ与SF-36的各维度及其总分均无明显统计学差异($P>0.05$)。

2.2.7 病情分期: 缓解期与活动期患者之间的IBDQ得分如表3,除了全身症状维度外,均有明显的统计学差异($P<0.01$)。两组之间的SF-36得分如表4,其中躯体角色、躯体疼痛、一般健康状况、社会功能、情感角色、总的躯体健康、总的心理健康以及总分有统计学意义($P<0.05$)。活动期又分为轻、中、重度。其中,重度活动期者仅有1例,故未进行统计学分析。而在轻度活动期与中度活动期之间,IBDQ与SF-36部分维度具有统计学差异($P<0.05$)(表5, 6)。

2.2.8 临床严重程度: 临床严重程度以重度者仅有2例,故未进行统计学分析。临床严重程度为

表 3 缓解期与活动期的IBDQ平均得分

IBDQ	病情分期	
	缓解期	活动期
<i>n</i>	44	132
肠道症状	58.6 ± 7.6	52.9 ± 9.5 ^b
全身症状	24.7 ± 4.8	23.0 ± 5.4
情感功能	64.4 ± 11.7	58.7 ± 12.2 ^b
社会功能	29.4 ± 5.6	25.1 ± 6.3 ^b
总分	177.2 ± 26.5	159.8 ± 29.6 ^b

^b $P<0.01$ vs 缓解期。IBDQ: 炎症性肠病生存质量问卷。

表 4 缓解期与活动期的SF-36平均得分

SF-36	病情分期	
	缓解期	活动期
<i>n</i>	44	132
躯体功能	86.0 ± 13.8	85.3 ± 15.1
躯体角色	64.2 ± 41.9	47.2 ± 43.0 ^b
躯体疼痛	72.9 ± 24.1	56.8 ± 20.2 ^a
一般健康状况	50.0 ± 18.8	41.4 ± 18.3 ^a
生命力	62.8 ± 17.0	56.4 ± 18.5
社会功能	79.5 ± 24.4	70.6 ± 24.1 ^b
情感角色	67.4 ± 37.7	47.2 ± 43.2 ^a
心理健康	68.2 ± 17.6	63.1 ± 17.1
总的躯体健康	67.2 ± 17.0	57.4 ± 16.9 ^a
总的心理健康	65.6 ± 17.6	55.7 ± 18.7 ^a
总分	68.9 ± 16.7	58.5 ± 18.0 ^a

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 缓解期。

轻度与中度之间,IBDQ与SF-36部分维度具有统计学差异($P<0.05$)(表7, 8)。

3 讨论

3.1 溃疡性结肠炎患者生存质量状况 本次调查中,IBDQ总分的波动范围为86.0-220.0分,平均164.1分±29.7分,大部分UC患者的IBDQ总分以及肠道症状、全身症状、情感功能和社会功能维度的得分明显下降,提示UC患者困扰于肠道及全身的各种症状,同时在情感、社会方面受到不同程度的影响,从而损害其生存质量。SF-36总分的波动范围为18.8-94.3分,平均61.1分±18.2分。本次调查中SF-36结果与美国SF-36评分标准^[4]相比,8个维度平均得分均明显低于其标准。再与杭州市的SF-36常模^[5]相比,除了躯体功能、生命力与心理健康维度的得分结果相似外,其他维度的得分明显下降。殷积美等^[6]调查UC患者生存质量情况,其调查对象的性别、年龄

表 5 轻度、中度活动期的IBDQ平均得分

IBDQ	活动期	
	轻度活动期	中度活动期
<i>n</i>	97	34
肠道症状	54.8 ± 9.0	47.5 ± 8.9 ^b
全身症状	23.8 ± 5.2	20.9 ± 5.5 ^b
情感功能	59.9 ± 12.5	55.3 ± 10.8 ^a
社会功能	26.1 ± 6.0	22.5 ± 6.3 ^b
总分	164.6 ± 28.7	146.1 ± 28.1 ^b

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 轻度活动期. IBDQ: 炎症性肠病生存质量问卷.

表 7 临床严重程度为轻度与中度的IBDQ平均得分

IBDQ	临床严重程度	
	轻度	中度
<i>n</i>	148	26
肠道症状	55.4 ± 8.9	48.8 ± 10.3 ^a
全身症状	23.9 ± 5.0	21.1 ± 6.4 ^b
情感功能	60.6 ± 12.2	58.1 ± 12.2
社会功能	26.9 ± 6.0	22.8 ± 7.1 ^a
总分	166.9 ± 28.3	150.8 ± 33.3 ^b

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 轻度. IBDQ: 炎症性肠病生存质量问卷.

表 6 轻度、中度活动期的SF-36平均得分

SF-36	活动期	
	轻度活动期	中度活动期
<i>n</i>	97	34
躯体功能	87.2 ± 14.3	80.0 ± 16.4 ^a
躯体角色	51.3 ± 44.0	36.8 ± 38.3
躯体疼痛	58.9 ± 21.6	50.6 ± 14.2
一般健康状况	43.7 ± 17.8	35.2 ± 18.4 ^a
生命力	57.9 ± 17.9	52.6 ± 19.5
社会功能	72.9 ± 22.9	64.0 ± 26.6
情感角色	49.5 ± 43.3	42.2 ± 42.6
心理健康	64.2 ± 16.9	63.1 ± 17.1
总的躯体健康	59.8 ± 16.5	51.1 ± 16.4 ^b
总的心理健康	57.6 ± 18.2	50.8 ± 19.3
总分	60.7 ± 17.6	52.7 ± 18.1 ^a

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 轻度活动期.

表 8 临床严重程度为轻度与中度的SF-36平均得分

SF-36	临床严重程度	
	轻度	中度
<i>n</i>	148	26
躯体功能	86.5 ± 13.9	80.2 ± 18.6
躯体角色	52.5 ± 43.7	49.0 ± 39.9
躯体疼痛	62.4 ± 22.9	52.8 ± 16.7
一般健康状况	44.9 ± 18.1	37.3 ± 21.1 ^a
生命力	59.7 ± 17.8	48.5 ± 18.5 ^b
社会功能	53.6 ± 42.2	67.3 ± 26.9
情感角色	53.6 ± 42.2	48.7 ± 45.0
心理健康	64.9 ± 17.0	61.7 ± 19.2
总的躯体健康	61.2 ± 17.1	53.6 ± 17.7 ^a
总的心理健康	59.4 ± 18.4	52.7 ± 20.8
总分	62.3 ± 17.8	55.7 ± 19.4

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 轻度.

■创新盘点

本文以调查上海地区UC患者的生存质量状况,并与国内外文献报道进行比较。同时,通过生存质量各维度的反映,分析对生存质量的影响因素,为临床提供相关资料。

与本调查相近,其各维度的得分较本研究调查结果低,但其下降趋势相似。Pace等^[7]研究中,应用SF-36、症状自评量表及社会再适应评定量表,对炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者之间进行生存质量比较。结果显示IBD与IBS患者生存质量均低于意大利常模人群的生存质量,且下降程度相似。

由此可见,UC患者的生存质量严重损害普遍存在,明显低于一般健康人群的生存质量水平,并在身体、心理、社会各方面受到影响。与Bernklev等^[8]研究与本研究结果相比,生存质量总体下降趋势相似,但其各维度得分结果之间尚存在一些差异,可能与被调查者的生活、文化程度、价值观、调查时间等不同有关。

3.2 溃疡性结肠炎患者生存质量影响因素分析

3.2.1 性别与年龄: 本研究结果显示,男女之间的

IBDQ、SF-36总分无明显统计学差异(*P*>0.05)。但在SF-36的躯体功能维度有统计学意义(*P*<0.05)。同时,不参与计分的自我报告的健康变化维度亦显示女性较低于男性,但能够提示男女对自我健康变化携有不同的态度,女性对躯体上的变化较男性敏感而耐受性较差。这与其他一些研究^[9,10]相似,其结果均显示女性的躯体疼痛相关维度得分明显下降,并与男性相比普遍存在焦虑、抑郁等负面情绪,故其情感相关维度亦明显下降,从而影响其生存质量。而克罗恩病(Crohn's disease, CD)女性患者亦出现相似现象,Stjernman等^[11]的研究中,发现女性患者对健康的主观评价较低,甚至较UC患者对生存质量的影响更大。Saibeni等^[12]的研究亦显示IBD女性患者生存质量低于男性患者,其中尤其年轻女性的生存质量显著下降。因此,性别因素足够成为影响生存质量的独立因素。

■应用要点

通过生存质量评价,提供客观数据,以了解UC患者生理、心理及社会等各方面情况;同时指导临床治疗,以多维度、全面地提高其疗效。

本研究发现不同年龄组别之间的生存质量情况无统计学意义($P>0.05$),故年龄因素不能成为独立的影响因素,但年龄与病情之间存在一定的相关性,即年龄越小,病情相对较重,并对疾病的耐受性较差,从而可能影响其生存质量。

3.2.2 吸烟: 研究显示,吸烟可改善UC患者的症状体征,而对CD患者有负面影响。近来Lakatos等^[13]研究结果显示,吸烟对UC患者与CD患者均有一定的保护作用。由此可见,吸烟为IBD的重要影响因素之一。参与本项调查的患者以非吸烟者居多。吸烟者与非吸烟者之间,IBDQ无明显统计学差异($P>0.05$)。而两组之间SF-36的躯体角色维度平均得分分别为49.4分 \pm 43.2分、79.2分 \pm 35.1分,吸烟者得分低于非吸烟者,具有统计学意义($P<0.05$),其余维度无明显差异($P>0.05$)。但Russel等^[14]的研究显示,吸烟男性与非吸烟男性相比,吸烟男性的生存质量相对较高,吸烟与生存质量之间有一定的联系。由于本次研究调查中,非吸烟者还包括女性患者、未成年人,故吸烟因素结果受到性别、年龄影响。

3.2.3 病程与临床类型: 本研究中将病程分为以下8个组别: 病程 ≤ 6 mo、6 mo $<$ 病程 ≤ 12 mo、12 mo $<$ 病程 ≤ 24 mo、24 mo $<$ 病程 ≤ 36 mo、36 mo $<$ 病程 ≤ 48 mo、48 mo $<$ 病程 ≤ 60 mo、60 mo $<$ 病程 ≤ 120 mo、病程 >120 mo。不同病程之间的生存质量无明显统计学意义($P>0.05$),提示病程不成为影响生存质量的独立因素,此与Kuriyama等^[15]研究结果一致。本研究发现,不同临床类型包括慢性复发型、慢性持续型和初发型之间,IBDQ与SF-36的各维度及其总分均无明显统计学差异($P>0.05$)。

3.2.4 病变部位、肠镜分级及病情严重程度: 不同病变部位的生存质量无明显统计学意义($P>0.05$),提示病变部位不能成为影响生存质量的独立因素。肠镜以轻、中、重度3种不同分级,而不同肠镜分级之间IBDQ、SF-36均无明显统计学差异($P>0.05$)。本次调查中肠镜以轻、中度为主,重度者相对极少,而轻、中度之间无明显差异。然而在不同病情程度之间的生存质量差异较显著,病情越重,IBDQ与SF-36的得分越低,生存质量则越低。主要在IBDQ的肠道症状、全身症状、社会功能维度以及SF-36的一般健康状况、生命力以及总的躯体健康维度有统计学差异($P<0.05$)。提示病情越重,肠道症状、全身症状越明显,从而影响患者身心健康,甚至影响其社交活动等。Casellas等^[16]研究中显示生存质

量与疾病类型或病变部位不影响其生存质量。而华婷琰等^[17]研究中发现,病情程度与病变部位、肠镜下表现之间存在一定的相关性。与本研究结果相近,病变部位及肠镜分级不能成为影响生存质量的独立因素,但与其密切相关的病情程度为影响UC患者生存质量的重要因素之一。

3.2.5 病情分期: 参与本项研究的患者大多处于活动期,其肠道症状、全身症状较缓解期严重,而疾病的活动在生存质量评价中成为重要因素之一^[16,18]。活动期UC患者尤以腹泻、腹痛、黏液脓血便加重或重现。其中,疼痛可影响生理、独立性、社会关系及环境等各领域,从而影响其生存质量^[19]。本次研究发现,活动期患者的生存质量明显低于缓解期的患者($P<0.01$),主要表现在肠道及全身症状、社会功能、情感功能等多方面,提示活动期患者生存质量下降与其临床症状密切相关,而疾病活动为影响生存质量的关键因素之一。反之,缓解或减轻其症状又是提高生存质量的重要手段。

3.2.6 心理因素: UC患者中普遍存在焦虑、抑郁等情感方面的表现,是由身体健康状态变化所造成负面影响;往往其负面情绪又是加重身体疾病状态的重要因素之一。在本次研究中,性别、病变部位、临床分期以及病情严重程度等各种因素,均可影响到UC患者心理、社会功能,导致整体生存质量下降。Pizzi等^[20]研究中亦发现UC患者的心理、情感因素与疾病活动指数密切相关。Mittermaier等^[21]跟踪IBD患者18 mo,其结果发现,焦虑、抑郁等情绪影响IBD患者的生存质量,并恶化IBD患者的病情。Bitton等^[22]研究中发现,患者近期对生活的压力感与疾病复发的时间密切相关。而Moskovitz等^[23]的IBD术后患者的生存质量研究中发现,术后生存质量较低的患者多采用自我控制、自责、逃避等消极应对方式。因此,改善或缓解精神、心理负面影响是提高生存质量的重要方法之一^[24,25]。

3.2.7 其他因素: 在本次研究发现,不少UC患者伴有神疲乏力等症状,而影响其生存质量。Romberg-Camps等^[26]的研究中亦发现疲劳为影响患者生存质量的重要因素之一,甚至处于缓解期的患者仍有疲劳症状,并强调肠道以外症状对生存质量的影响。Minderhoud等^[27]研究发现,80例IBD患者中,40%患者承受着疲劳,IBDQ评分值与多维度的疲劳问卷评分值呈负相关($r = 0.735, P<0.001$)。提示疲劳对IBD患者生存

质量有一定的负面影响。另外, 176例患者中, 因本病而2例病休、1例休学, 占总体人数的4.7%。Bernklev等^[28]研究中显示, 11.7%的IBD患者, 在5年期间处于失业状态, 而在UC患者中更频繁出现, 且病休、失业、休学等因素与生存质量呈负相关。Akobeng等^[29]研究儿童UC患者, 其父母的工作、生活以及对其他家庭成员生活方式带来限制, 导致整个家庭的负担加重。因此, 医疗费用、生活费支出等经济上的问题, 带来严重的生存质量损害, 并与长期服药或失业等因素有关^[30]。在本研究中, 因本病而病休的患者比例并不多, 远少于国外所报道的数据, 但国内亦有病休、失业的患者, 病情-医疗费用-工作压力成为恶性循环, 严重损害其生存质量。

本研究提示UC患者的生存质量均有所下降, 以肠道症状、躯体疼痛为主要影响因素, 继而可影响全身、精神健康以及社会功能。UC患者的生存质量与性别、病情分期和病情严重程度等因素相关。

4 参考文献

- 1 石仁芳, 林中, 张剑波, 韦铮武, 卢艺, 周本英. 溃疡性结肠炎临床及内镜诊断特点. 华夏医学 2007; 20: 233-234
- 2 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 中华消化杂志 2007; 27: 545-550
- 3 Guyatt G, Mitchell A, Irvine EJ, Singer J, Williams N, Goodacre R, Tompkins C. A new measure of health status for clinical trials in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1989; 96: 804-810 [PMID: 2644154]
- 4 Medical Outcomes Trust. How to score the SF-36 healthsurvey. Boston: Medical Trust, 1993: 2-217 Available from: URL: http://www.chiro.org/LINKS/OUTCOME/How_to_score_the_SF-36.pdf
- 5 王红妹, 李鲁, 沈毅. 中文版SF-36量表用于杭州市区居民生命质量研究. 中华预防医学杂志 2001; 35: 428-433
- 6 殷积美, 宁瑞花, 刘巍. 溃疡性结肠炎患者生活质量的调查及分析. 解放军护理杂志 2008; 25: 40-41
- 7 Pace F, Molteni P, Bollani S, Sarzi-Puttini P, Stockbrügger R, Bianchi Porro G, Drossman DA. Inflammatory bowel disease versus irritable bowel syndrome: a hospital-based, case-control study of disease impact on quality of life. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 1031-1038 [PMID: 14621276]
- 8 Bernklev T, Jahnsen J, Lygren I, Henriksen M, Vatn M, Moum B. Health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease measured with the short form-36: psychometric assessments and a comparison with general population norms. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 909-918 [PMID: 16189421]
- 9 Hjortswang H, Järnerot G, Curman B, Sandberg-Gertzén H, Tysk C, Blomberg B, Almer S, Ström M. The influence of demographic and disease-related factors on health-related quality of life in patients with ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 1011-1020 [PMID: 12923375]
- 10 Hauser G, Tkalcic M, Stimac D, Milić S, Sincić BM. Gender related differences in quality of life and affective status in patients with inflammatory bowel disease. *Coll Antropol* 2011; 35 Suppl 2: 203-207 [PMID: 22220436]
- 11 Stjernman H, Tysk C, Almer S, Ström M, Hjortswang H. Unfavourable outcome for women in a study of health-related quality of life, social factors and work disability in Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 671-679 [PMID: 21654323 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328346f622]
- 12 Saibeni S, Cortinovi I, Beretta L, Tatarella M, Ferraris L, Rondonotti E, Corbellini A, Bortoli A, Colombo E, Alvisi C, Imperiali G, de Franchis R. Gender and disease activity influence health-related quality of life in inflammatory bowel diseases. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 509-515 [PMID: 15816468]
- 13 Lakatos PL, Vegh Z, Lovasz BD, David G, Pandur T, Erdelyi Z, Szita I, Mester G, Balogh M, Szipocs I, Molnar C, Komaromi E, Golovics PA, Mandel M, Horvath A, Szathmari M, Kiss LS, Lakatos L. Is current smoking still an important environmental factor in inflammatory bowel diseases? Results from a population-based incident cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1010-1017 [PMID: 23399739 DOI: 10.1097/MIB.0b013e3282802b3e]
- 14 Russel MG, Nieman FH, Bergers JM, Stockbrügger RW. Cigarette smoking and quality of life in patients with inflammatory bowel disease. South Limburg IBD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 1075-1081 [PMID: 8944369]
- 15 Kuriyama M, Kato J, Kuwaki K, Morimoto N, Nawa T, Fujimoto T, Kono H, Okano N, Miyaike J, Morita T, Okada H, Suzuki S, Yoshioka T, Shiode J, Suwaki K, Sakaguchi K, Shiratori Y. Clinical factors that impair health-related quality of life in ulcerative colitis patients vary with the disease duration. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 634-641 [PMID: 18679065]
- 16 Casellas F, Arenas JI, Baudet JS, Fábregas S, García N, Gelabert J, Medina C, Ochotorena I, Papo M, Rodrigo L, Malagelada JR. Impairment of health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease: a Spanish multicenter study. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 488-496 [PMID: 15867589]
- 17 华婷婷, 黄介飞, 章建国, 秦正积. 溃疡性结肠炎病变范围与临床、内镜和病理特点的关系. 第二军医大学学报 2008; 29: 276-279
- 18 Zahn A, Hinz U, Karner M, Ehehalt R, Stremmel W. Health-related quality of life correlates with clinical and endoscopic activity indexes but not with demographic features in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1058-1067 [PMID: 17075347]
- 19 Skevington SM. Investigating the relationship between pain and discomfort and quality of life, using the WHOQOL. *Pain* 1998; 76: 395-406 [PMID: 9718258]
- 20 Pizzi LT, Weston CM, Goldfarb NI, Moretti D, Cobb N, Howell JB, Infantolino A, Dimarino AJ, Cohen S. Impact of chronic conditions on quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 47-52 [PMID: 16374258]
- 21 Mittermaier C, Dejaco C, Waldhoer T, Oefflerbauer-Ernst A, Miehsler W, Beier M, Tillinger W, Gangl A, Moser G. Impact of depressive mood on relapse

■同行评价

文章具有较高科学性、能较好的反应上海当地的溃疡性结肠炎发病状况, 样本量丰富, 密切联系临床工作, 研究的内容也比较重要, 具有一定的新颖性, 是一篇很好的临床研究文章。

- in patients with inflammatory bowel disease: a prospective 18-month follow-up study. *Psychosom Med* 2004; 66: 79-84 [PMID: 14747641]
- 22 Bitton A, Sewitch MJ, Peppercorn MA, deB Edwardes MD, Shah S, Ransil B, Locke SE. Psychosocial determinants of relapse in ulcerative colitis: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2203-2208 [PMID: 14572569]
- 23 Moskovitz DN, Maunder RG, Cohen Z, McLeod RS, MacRae H. Coping behavior and social support contribute independently to quality of life after surgery for inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 517-521 [PMID: 10789749]
- 24 Oxelmark L, Magnusson A, Löfberg R, Hillerås P. Group-based intervention program in inflammatory bowel disease patients: effects on quality of life. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 182-190 [PMID: 17206698]
- 25 Boye B, Lundin KE, Jantschek G, Leganger S, Mogleby K, Tangen T, Jantschek I, Pripp AH, Wojniusz S, Dahlstroem A, Rivenes AC, Benninghoven D, Hausken T, Roseth A, Kunzendorf S, Wilhelmsen I, Sharpe M, Blomhoff S, Malt UF, Jahnsen J. INSPIRE study: does stress management improve the course of inflammatory bowel disease and disease-specific quality of life in distressed patients with ulcerative colitis or Crohn's disease? A randomized controlled trial. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1863-1873 [PMID: 21287660 DOI: 10.1002/ibd.21575]
- 26 Romberg-Camps MJ, Bol Y, Dagnelie PC, Heselink-van de Kruijs MA, Kester AD, Engels LG, van Deursen C, Hameeteman WH, Pierik M, Wolters F, Russel MG, Stockbrügger RW. Fatigue and health-related quality of life in inflammatory bowel disease: results from a population-based study in the Netherlands: the IBD-South Limburg cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 2137-2147 [PMID: 20848468 DOI: 10.1002/ibd.21285]
- 27 Minderhoud IM, Oldenburg B, van Dam PS, van Berge Henegouwen GP. High prevalence of fatigue in quiescent inflammatory bowel disease is not related to adrenocortical insufficiency. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1088-1093 [PMID: 12809832]
- 28 Bernklev T, Jahnsen J, Henriksen M, Lygren I, Aadland E, Sauar J, Schulz T, Stray N, Vatn M, Moum B. Relationship between sick leave, unemployment, disability, and health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 402-412 [PMID: 16670530]
- 29 Akobeng AK, Miller V, Firth D, Suresh-Babu MV, Mir P, Thomas AG. Quality of life of parents and siblings of children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28: S40-S42 [PMID: 10204524]
- 30 van der Eijk I, Vlachonikolis IG, Munkholm P, Nijman J, Bernklev T, Politi P, Odes S, Tsianos EV, Stockbrügger RW, Russel MG. The role of quality of care in health-related quality of life in patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 392-398 [PMID: 15475747]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

白介素-1B基因多态性与胃癌易感性关系的研究进展

王 乾, 琚 坚

王乾, 琚坚, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科 云南省昆明市 650101

王乾, 主要从事消化系统肿瘤发病机制及防治措施的研究。

作者贡献分布: 本文综述由王乾完成; 琚坚负责修改与审校。

通讯作者: 琚坚, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 650101, 云南省昆明市五华区滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科, jujianyn@163.com

电话: 0871-65351281

收稿日期: 2013-07-30 修回日期: 2013-09-11

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Progress in understanding the association between interleukin-1B gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer

Qian Wang, Jian Ju

Qian Wang, Jian Ju, Department of VIP, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jian Ju, Professor, Chief Physician, Department of VIP, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 375 Dianmian Avenue, Wuhua District, Kunming 650101, Yunnan Province, China. jujianyn@163.com

Received: 2013-07-30 Revised: 2013-09-11

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

Gastric cancer is one of severe diseases threatening human health and has a close association with *Helicobacter pylori* infection. Interleukin-1B (IL-1B) gene polymorphisms have been suggested to be associated with susceptibility to gastric cancer; however, there is still controversy over this point of view. In this paper we will summarize recent progress in understanding the association between IL-1B gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer in population in different areas or of different races.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-1B; Gene polymorphism; Gastric cancer

Wang Q, Ju J. Progress in understanding the association between interleukin-1B gene polymorphisms and

susceptibility to gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3493-3498 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3493>

摘要

胃癌(gastric cancer, GC)是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一, 除与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染有密切关系外, 部分研究认为白介素-1B(interleukin-1B, IL-1B)基因多态性与GC易感性存在关联, 从而增加GC的发生风险。然而, 此观点尚存在争议。综述IL-1B基因多态性在不同地区、不同种族间与GC易感性之间关系的研究和进展, 为进一步探讨二者关系提供参考。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 白介素-1B; 基因多态性; 胃癌

核心提示: 本文列举了近些年有影响力的国内外研究, 通过研究事实说明胃癌的发生与白介素-1B(interleukin-1B, IL-1B)基因的关系存在争论。而本文的精华部分是对研究结果不一致的可能因素或者原因进行的探讨和分析, 为进一步明确二者关系进行梳理。

王乾, 琚坚: 白介素-1B基因多态性与胃癌易感性关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3493-3498 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3493>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上第5大最常见的肿瘤, 也是世界范围内第2大最普遍的肿瘤相关性死亡原因^[1]。GC的发生被认为是多重危险因素的组合: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)菌株毒力, 环境因素及长期积累, 特定的基因学改变, 及长期合并萎缩性胃炎的年长者等^[2]。由*H. pylori*感染诱导的慢性炎症反应被认为是重要的致癌机制^[3], 但*H. pylori*感染被认为是必需但不充分的诱发胃腺癌的原因, 因为只有不足1%感染*H. pylori*的个体最终发展成为胃

■背景资料

随着世界范围内人均寿命的逐步提高及生活水平的不断改善, 人们越来越重视生活质量的高低。而恶性肿瘤由于致残、致死率高及其带来的疾病负担, 已成为威胁人类健康最大的杀手之一。其中, 胃癌的高发是人类面临的最棘手问题之一; 因此积极探索其发病成因及机制从而制定一系统防治措施成为全人类的课题。而胃癌的发生与基因究竟是否存在关系是其中的一个研究热点。

■同行评议者

俞继卫, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外科(胃肠外科)

■ 研发前沿

*IL-1B*基因多态性在不同种族、不同地区间的分布频率不同,与胃癌易感性的关系长期存在争论。是何原因导致的分布频率不同及其与胃癌究竟是否相关仍是一个难点。

腺癌^[4]。因此,GC代表了炎症诱导恶性肿瘤的典型例子,并且突出了宿主因素在疾病发展过程中的重要性^[5]。在一系列针对GC易感性的研究中,白介素-1B(interleukin-1B, *IL-1B*)基因多态性已成为一个研究热点。然而,目前众多涉及二者间是否存在相关性的研究尚未得到一致结论。

1 白介素-1 β 的生物学效应及白介素-1B基因多态性

IL-1是一种典型的前炎性细胞因子及炎症反应中的关键因子,全身多种细胞如单核-巨噬细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞、淋巴细胞、表皮细胞等都可以产生。它具有激活炎性细胞游走和增强其功能、诱导血管内皮细胞表达黏附分子等功能,从而参与炎症反应、肿瘤性疾病、自身免疫性疾病、动脉粥样硬化症以及移植排斥反应等病理过程。其亚型IL-1 β 参与到宿主感染*H. pylori*以及感染后的病理过程中,被认为是*H. pylori*感染后诱发胃癌的协同因子。

侵入胃内的*H. pylori*主要驻留在胃黏膜表面的黏液凝胶层,很少入侵腺体^[5]。他可通过脲酶介导的肌球蛋白II的激活破坏胃黏膜屏障功能^[6],并诱导黏膜上皮细胞异常的CpG岛甲基化从而促进抑癌基因失活^[7]。同时,他还可影响线粒体的功能及DNA修复,进而直接调节胃黏膜细胞的遗传不稳定性^[8]。此外,*H. pylori*在胃内的局部感染上调了胃黏膜IL-1 β 水平^[9],后者启动和增强了针对*H. pylori*感染的炎症反应。作为目前已知的最强大抑酸剂^[1],IL-1 β 的过度产生导致胃酸分泌过少,进一步促进细菌定植^[10];并在胃内通过IL-1RI/核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路激活骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs),使MDSCs显著增加;他还降低了E-钙黏蛋白的表达^[11],并诱导胃泌素及自由基的过多产生,从而促使上皮细胞向间质细胞转变、促进异型增生,最终导致黏膜的肿瘤性转化^[2,12,13]。不仅如此,持久的炎症反应还可导致遗传的不稳定性,通过一代又一代的致突变化学物质,如活性氧^[14],可直接损害宿主细胞核和线粒体DNA,降低胃黏膜的抗氧化能力^[15]。在形成肿瘤以后,IL-1 β 还可调整GC细胞中ATP-结合盒转运蛋白亚族G2(ATP-binding cassette sub-family G member 2, ABCG2)在转录和转录后水平的表达,增强了ABCG2在GC细胞中的功能^[16],从而增加GC化疗过程中的多药耐药几率;并通过上调黏附分子的表达影

响GC细胞黏附^[17]。基础研究已证实,在转基因的小鼠中,人类IL-1 β 在胃中特定的表达可诱导胃炎和GC的发生^[18-20]。虽然IL-1 β 的产生依赖多种因素,有越来越多的证据表明个体遗传背景扮演了主要角色。IL-1的编码基因位于人类2号染色体q13-q14,编码区全长430 bp;其内含有3个相关联的基因,即*IL-1A*、*IL-1B*和IL-1受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist, *IL-1RN*),分别编码IL-1 α 、IL-1 β 和IL-1ra。其中*IL-1B*基因在转录起始区-511、-31位点存在多态性,即-511C/T和-31T/C的转换;并且他们是连锁不平衡的^[2]。这种基因多态性可能会导致编码的IL-1 β 高表达,进而影响胃酸的分泌量及炎症反应,直接加重*H. pylori*感染后胃黏膜炎症反应及萎缩程度,从而增加GC发生的风险。Chen等^[21]通过基因测序全面研究了*IL-1B*的基因多态性,并在12 kb的基因上确定了20个人单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP);其中在-3737、-1464、-511、-31四个位点的频率>4%,并且他们在功能和流行病学方面各具特色。不仅如此,Chiu-rillo等^[22]认为在慢性胃炎患者中特定*H. pylori*感染与此种基因多态性存在关联。

2 *IL-1B*基因多态性与GC易感性关系的相关研究

*IL-1B*基因多态性与GC是否存在相关性的争论由来已久。在对合并*H. pylori*感染的秘鲁人进行的一项涉及到334例伴有萎缩性胃炎或GC的住院患者及158例无萎缩胃炎对照组的病例对照分析后,Gehmert等^[23]认为*IL-1B-511C*等位基因增加了个体罹患胃炎(OR = 5.60)和肠型GC(OR = 2.36)的风险;而*IL-1B-511CC*纯合子基因型更显著增加胃炎和肠型GC风险(OR分别为11.22、4.15)。与该研究结果相似,Ikehara等^[24]也认为C等位基因与GC进展存在关联。

一项针对我国广东省1010例GC患者及1500例健康人进行的病例对照研究在平均随访了14 mo后,得到的结果认为与CC基因型相比,*IL-1B-511TT*基因型增加了个体罹患GC的风险(OR = 1.97, 95%CI: 1.29-3.01, $P = 0.0016$),且该基因型与肠型GC显著相关(OR = 3.16, 95%CI: 1.74-5.71, $P = 0.0001$);同时*IL-1B-511T*等位基因杂合子及纯合子基因型频率在GC患者中显著增加^[25]。2011年,在哥伦比亚首都波哥大及通哈两地对46例GC及99例非萎缩性胃炎进行的病例对照研究也得出类似结果:IL-1B-511TT携带者增加了罹患GC的风险(OR = 11.31, 95%CI:

1.20-106.54)^[26]。同年, 南京医科大学第一附属医院在对392例GC患者及508例健康者进行研究后, 认为IL-1B-31CC/CT及IL-1B-511CC/TT基因型增加了中国人罹患胃癌的风险, 这种风险在感染*H. pylori*时进一步增加^[27]。上述3项研究结果与Yoo等^[9]的观点一致: Yoo等在对*H. pylori*感染相关的111例慢性胃炎患者及78例胃癌患者研究后证实IL-1B-511T/T基因型显著增加了多个CpG岛甲基化水平, 如此便可能增加了*H. pylori*感染及IL-1B-511T/T基因型个体罹患GC的风险。此外, Hnatyszyn等^[28]最新的研究认为IL-1B+3954C>T基因型提高了胃黏膜在*H. pylori*感染过程中对炎症的敏感性。

2012年, 日本研究人员根据组织学上胃黏膜萎缩的严重程度, 将123例不伴有GC的研究对象分为非萎缩组、轻度萎缩组和严重萎缩组进行研究; 研究结果认为IL-1B-31C、-511T不同的等位基因加之相关的辅助因素(年龄、性别、*H. pylori*感染等), 可能加速胃黏膜炎症反应和萎缩程度^[29]。一个共涉及18项关于IL-1B-511、21项关于IL-1B-31、10项关于IL-1B+3954、20项关于IL-1RN-511T多态性研究的荟萃分析, 认为IL-1B-511T等位基因与胃腺癌风险显著相关, 与非贲门GC或肠型GC更显著相关; 但是以上相关只在白种人中存在, 在亚洲人或拉美裔人并不存在^[30]。新近的一项系统综述及荟萃分析认为IL-1B+3954C/T基因多态性显著增加了总体罹患胃癌的风险(OR = 1.15, 95%CI: 1.01-1.30)^[31]。但是, 有关二者间不存在相关性的研究也诸见报道。Wex等^[32]在对116例GC患者、142例“高风险胃炎”患者及94例健康对照者研究后, 认为IL-1B基因多态性与德国白种人发生GC的风险没有关联。相同的是, Kupcinkas等^[33]对212例来自立陶宛、拉脱维亚及66例来自台湾的萎缩性胃炎及胃肠上皮化生患者研究后, 认为在波罗的海地区和台湾地区IL-1B基因多态性与GC及癌前病变的风险没有相关性。在世界其他区域, 如葡萄牙和莫桑比克, IL-1B-511基因型与个体罹患GC、癌前病变的风险也不存在关系^[10]。

2011年, 上海一项对74942例年龄在40-70岁间女性进行了平均随访4年的研究, 结论认为个体血浆中IL-1 β 水平与GC的发生风险没有相关性^[34]。更令人诧异的是, 在对130例日本GC患者研究分析后, Tahara等^[35]认为GC患者中携带IL-1B-31CC、IL-1B-511TT基因型至少一种者, 个

体会有更好的预后; 因为在该研究中IL-1B-3-CC(OR = 0.39, 95%CI: 0.15-0.96, $P = 0.04$)及IL-1B-511TT基因型(OR = 0.23, 95%CI: 0.08-0.67, $P = 0.007$)显著降低淋巴浸润的风险, 并与降低血管侵犯的风险微弱相关。此外, 一项涉及14项研究的荟萃分析认为IL-1B-511C/T基因多态性与发生十二指肠溃疡的风险没有相关性^[36]。

3 结论

GC的发生涉及*H. pylori*菌株的毒力、宿主遗传特征、饮食模式的变化等多个伴随因素^[37]。近年来, IL-1B基因多态性对GC及癌前病变易感性的影响已成为研究的热点; 此外, 也有研究认为COX2基因多态性与肠型胃癌存在关联^[38]。之所以众多研究的结果未达成共识, 究其原因可能有以下几点: (1)研究的设计是否存在某些缺陷。比如使用了不恰当的对照组或研究人群; (2)开展研究时被研究人群的GC患病率是否被考虑。因为相较于GC高发区, IL-1B基因多态性与GC间的阳性关联似乎更容易在GC低发区被证实; (3)是否存在潜在的协同作用, 因为两个或两个以上基因标记可能会影响表型结果。如: IL-1B-31等位基因仅仅在GTF2A1GG基因型的个体中被证实与GC存在相关性^[5,39]; (4)是否考虑了环境因素的长期积累。已知环境诱因的影响可以在基因水平发现^[2], 饮食间的相互作用对基因稳定性的影响已被公认^[40], 某些物质如绿茶可以影响基因的甲基化状态^[41]。还有研究指出, 食盐的摄入量与GC及癌前病变的风险显著相关^[42]; 并且这种风险在特定的遗传易感性个体中是增加的^[43]。在感染了*H. pylori*个体中, 辣椒素摄入增多增加了IL-1B-31C等位基因携带者罹患GC的风险^[1]; (5)是否考虑到不同种族间存在的遗传差异。比如, 同是位于我国青海省的藏族、汉族及回族人之间IL-1B基因型分布就存在差异^[44]。此外, 不断增加的肥胖可能可以用来解释西方国家在食管癌、贲门腺癌发病率的上升, 因为食管癌、贲门腺癌的风险会随着越来越大的BMI而增加^[45]; 动物实验也表明食物诱发的肥胖可促进胃癌的生长^[46]。而长期使用药物抑制胃酸, 是食管癌和贲门腺癌风险增加的另一个原因^[47]。当然, 有研究认为缺血性贫血也是胃癌的一个发生风险^[48]。

总之, GC的发生是多因素、多步骤的病理过程。个体间的基因决定了细胞因子产生的差异, 从而影响*H. pylori*感染和GC结局^[49,50]。

■相关报道

本文列举了最近3年内的相关研究, 内容比较新, 同时知识面涉及不同地区、不同国家的研究, 为进一步充分阐明二者关系提供了论据。

■创新盘点

本文不是对相关研究进行简单的罗列,而是通过研究结果的不一致找到问题所在,重点分析、讨论研究结果不一致的因素;为以后可能进行的研究提供一些思路、改进一些方法。

4 参考文献

- 1 López-Carrillo L, Camargo MC, Schneider BG, Sicinschi LA, Hernández-Ramírez RU, Correa P, Cebrian ME. Capsaicin consumption, *Helicobacter pylori* CagA status and IL1B-31C & gt; T genotypes: a host and environment interaction in gastric cancer. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 2118-2122 [PMID: 22414649 DOI: 10.1016/j.fct.2012.02.043]
- 2 Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, Offerhaus GJ. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer. *Hum Genet* 2009; 126: 615-628 [PMID: 19657673 DOI: 10.1007/s00439-009-0722-x]
- 3 Fuentes-Pananá E, Camorlinga-Ponce M, Maldonado-Bernal C. [Infection, inflammation and gastric cancer]. *Salud Publica Mex* 2009; 51: 427-433 [PMID: 19936556 DOI: 10.1590/S0036-36342009000500010]
- 4 Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186 [PMID: 12374879 DOI: 10.1056/NEJMr020542]
- 5 McLean MH, El-Omar EM. Genetics of inflammation in the gastrointestinal tract and how it can cause cancer. *Recent Results Cancer Res* 2011; 185: 173-183 [PMID: 21822827 DOI: 10.1007/978-3-642-03503-6_11]
- 6 Wroblewski LE, Shen L, Ogden S, Romero-Gallo J, Lapierre LA, Israel DA, Turner JR, Peek RM. *Helicobacter pylori* dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation. *Gastroenterology* 2009; 136: 236-246 [PMID: 18996125 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.011]
- 7 Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-167 [PMID: 9988266 DOI: 10.1038/5947]
- 8 Machado AM, Desler C, Bøggild S, Strickertsson JA, Friis-Hansen L, Figueiredo C, Seruca R, Rasmussen LJ. *Helicobacter pylori* infection affects mitochondrial function and DNA repair, thus, mediating genetic instability in gastric cells. *Mech Ageing Dev* 2013 Sep 3. [Epub ahead of print] [PMID: 24012633 DOI: 10.1016/j.mad.2013.08.004]
- 9 Yoo EJ, Park SY, Cho NY, Kim N, Lee HS, Kim D, Kang GH. Influence of IL1B polymorphism on CpG island hypermethylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric cancer. *Virchows Arch* 2010; 456: 647-652 [PMID: 20405297 DOI: 10.1007/s00428-010-0918-4]
- 10 Peleteiro B, Lunet N, Carrilho C, Durães C, Machado JC, La Vecchia C, Barros H. Association between cytokine gene polymorphisms and gastric precancerous lesions: systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 762-776 [PMID: 20200422 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0917]
- 11 Huang FY, Chan AO, Rashid A, Wong DK, Cho CH, Yuen MF. *Helicobacter pylori* induces promoter methylation of E-cadherin via interleukin-1 β activation of nitric oxide production in gastric cancer cells. *Cancer* 2012; 118: 4969-4980 [PMID: 22415887 DOI: 10.1002/cncr.27519]
- 12 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386 DOI: 10.1038/nrc822]
- 13 Matthews GM, Butler RN. Cellular mucosal defense during *Helicobacter pylori* infection: a review of the role of glutathione and the oxidative pentose pathway. *Helicobacter* 2005; 10: 298-306 [PMID: 16104945 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2005.00327.x]
- 14 Farinati F, Cardin R, Cassaro M, Bortolami M, Nitti D, Tieppo C, Zaninotto G, Rugge M. *Helicobacter pylori*, inflammation, oxidative damage and gastric cancer: a morphological, biological and molecular pathway. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 195-200 [PMID: 18414189 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3282f0bfff5]
- 15 Machado AM, Figueiredo C, Touati E, Máximo V, Sousa S, Michel V, Carneiro F, Nielsen FC, Seruca R, Rasmussen LJ. *Helicobacter pylori* infection induces genetic instability of nuclear and mitochondrial DNA in gastric cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2995-3002 [PMID: 19383819 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2686]
- 16 Mosaffa F, Kalalinia F, Lage H, Afshari JT, Behravan J. Pro-inflammatory cytokines interleukin-1 beta, interleukin 6, and tumor necrosis factor-alpha alter the expression and function of ABCG2 in cervix and gastric cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 363: 385-393 [PMID: 22193459 DOI: 10.1007/s11010-011-1191-9]
- 17 Yu G, Tang B, Yu PW, Peng ZH, Qian F, Sun G. Systemic and peritoneal inflammatory response after laparoscopic-assisted gastrectomy and the effect of inflammatory cytokines on adhesion of gastric cancer cells to peritoneal mesothelial cells. *Surg Endosc* 2010; 24: 2860-2870 [PMID: 20419322 DOI: 10.1007/s00464-010-1067-1]
- 18 Tu S, Bhagat G, Cui G, Takaishi S, Kurt-Jones EA, Rickman B, Betz KS, Penz-Oesterreicher M, Bjorkdahl O, Fox JG, Wang TC. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell* 2008; 14: 408-419 [PMID: 18977329 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.10.011]
- 19 Shigematsu Y, Niwa T, Rehnberg E, Toyoda T, Yoshida S, Mori A, Wakabayashi M, Iwakura Y, Ichinose M, Kim YJ, Ushijima T. Interleukin-1 β induced by *Helicobacter pylori* infection enhances mouse gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2013; 340: 141-147 [PMID: 23920123 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.07.034]
- 20 Huang FY, Chan AO, Lo RC, Rashid A, Wong DK, Cho CH, Lai CL, Yuen MF. Characterization of interleukin-1 β in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and DNA methylation in interleukin-1 receptor type 1 knockout (IL-1R1(-/-)) mice. *Eur J Cancer* 2013; 49: 2760-2770 [PMID: 23664095 DOI: 10.1016/j.ejca.2013.03.031]
- 21 Chen H, Wilkins LM, Aziz N, Cannings C, Wylie DH, Bingle C, Rogus J, Beck JD, Offenbacher S, Cork MJ, Rafie-Kolpin M, Hsieh CM, Kornman KS, Duff GW. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 519-529 [PMID: 16399797 DOI: 10.1093/hmg/ddi469]
- 22 Chiurillo MA, Moran YH, Cañas M, Valderrama EJ, Armanie E. Infection with specific *Helicobacter pylori*-cag pathogenicity island strains is associated with interleukin-1B gene polymorphisms in Venezuelan chronic gastritis patients. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 449-456 [PMID: 20585978 DOI: 10.1007/s10620-010-1316-0]
- 23 Gehmert S, Velapattino B, Herrera P, Balqui J, Santivañez L, Cok J, Vargas G, Combe J, Passaro DJ, Wen S, Meyer F, Berg DE, Gilman RH. Interleukin-1 beta single-nucleotide polymorphism's C allele is associated with elevated risk of gastric cancer in

- Helicobacter pylori-infected Peruvians. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81: 804-810 [PMID: 19861615 DOI: 10.4269/ajtmh.2009.08-0494]
- 24 Ikehara SK, Ikehara Y, Matsuo K, Hirose K, Niwa T, Ito H, Ito S, Kodera Y, Yamamura Y, Nakanishi H, Tatematsu M, Tajima K. A polymorphism of C-to-T substitution at -31 IL1B is associated with the risk of advanced gastric adenocarcinoma in a Japanese population. *J Hum Genet* 2006; 51: 927-933 [PMID: 17006606 DOI: 10.1007/s10038-006-0040-2]
 - 25 Yu J, Zeng Z, Wang S, Tian L, Wu J, Xue L, Lee CW, Zhang M, Goggins WB, Chen M, Hu P, Sung JJ. IL-1B-511 polymorphism is associated with increased risk of certain subtypes of gastric cancer in Chinese: a case-control study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 557-564 [PMID: 19904240 DOI: 10.1038/ajg.2009.644]
 - 26 Martínez T, Hernández-Suárez G, Bravo MM, Trujillo E, Quiroga A, Albis R, Robayo JC, Bravo JC, Camorlinga M. [Association of interleukin-1 genetic polymorphism and CagA positive Helicobacter pylori with gastric cancer in Colombia]. *Rev Med Chil* 2011; 139: 1313-1321 [PMID: 22286731 DOI: 10.4067/S0034-98872011001000010]
 - 27 He BS, Pan YQ, Xu YF, Zhu C, Qu LL, Wang SK. Polymorphisms in interleukin-1B (IL-1B) and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1RN) genes associate with gastric cancer risk in the Chinese population. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2017-2023 [PMID: 21243433 DOI: 10.1007/s10620-010-1557-y]
 - 28 Hnatyszyn A, Wielgus K, Kaczmarek-Rys M, Skrzypczak-Zielinska M, Szalata M, Mikolajczyk-Stecyna J, Stanczyk J, Dziuba I, Mikstaki A, Slomski R. Interleukin-1 Gene Polymorphisms in Chronic Gastritis Patients Infected with Helicobacter pylori as Risk Factors of Gastric Cancer Development. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013 Aug 31. [Epub ahead of print] [PMID: 23995914]
 - 29 Tahara T, Shibata T, Yamashita H, Yoshioka D, Okubo M, Yonemura J, Kamiya Y, Ishizuka T, Nakagawa Y, Nagasaka M, Iwata M, Nakamura M, Hirata I, Arisawa T. Synergistic effect of IL-1 β and TNF- α polymorphisms on the H. pylori-related gastric pre-malignant condition. *Hepatology* 2012; 59: 2416-2420 [PMID: 23169178]
 - 30 Xue H, Lin B, Ni P, Xu H, Huang G. Interleukin-1B and interleukin-1 RN polymorphisms and gastric carcinoma risk: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1604-1617 [PMID: 20880168 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06428.x]
 - 31 Xu J, Yin Z, Cao S, Gao W, Liu L, Yin Y, Liu P, Shu Y. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk. *PLoS One* 2013; 8: e63654 [PMID: 23704929 DOI: 10.1371/journal.pone.0063654]
 - 32 Wex T, Leodolter A, Bornschein J, Kuester D, Kähne T, Kropf S, Albrecht C, Naumann M, Roessner A, Malfertheiner P. Interleukin 1 beta (IL1B) gene polymorphisms are not associated with gastric carcinogenesis in Germany. *Anticancer Res* 2010; 30: 505-511 [PMID: 20332462]
 - 33 Kupcinskas L, Wex T, Kupcinskas J, Leja M, Ivanauskas A, Jonaitis LV, Janciauskas D, Kiudelis G, Funka K, Sudraba A, Chiu HM, Lin JT, Malfertheiner P. Interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms are not associated with premalignant gastric conditions: a combined haplotype analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1189-1195 [PMID: 20631624 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833cf3d5]
 - 34 Wong HL, Rabkin CS, Shu XO, Pfeiffer RM, Cai Q, Ji BT, Yang G, Li HL, Rothman N, Gao YT, Zheng W, Chow WH. Systemic cytokine levels and subsequent risk of gastric cancer in Chinese Women. *Cancer Sci* 2011; 102: 1911-1915 [PMID: 21740481 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02033.x]
 - 35 Tahara T, Shibata T, Nakamura M, Yamashita H, Yoshioka D, Okubo M, Yonemura J, Maeda Y, Maruyama N, Kamano T, Kamiya Y, Fujita H, Nakagawa Y, Nagasaka M, Iwata M, Hirata I, Arisawa T. Effect of IL-1 β and TNF- α polymorphisms on the prognosis and survival of gastric cancer patients. *Clin Exp Med* 2011; 11: 211-217 [PMID: 21246243 DOI: 10.1007/s10238-010-0129-y]
 - 36 Zhang BB, Yin YW, Sun QQ. No association between IL-1 β -511 C/T polymorphism and the risk of duodenal ulcer: a meta-analysis of 4667 subjects. *Gene* 2012; 506: 188-194 [PMID: 22759516 DOI: 10.1016/j.gene.2012.06.058]
 - 37 Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 253-256 [PMID: 18452640 DOI: 10.1017/S002966510800712X]
 - 38 de Melo CF, Gígek CO, da Silva JN, Cardoso Smith MD, de Araújo RM, Burbano RR, Lima EM. Association of COX2 gene hypomethylation with intestinal type gastric cancer in samples of patients from northern Brazil. *Tumour Biol* 2013 Sep 7. [Epub ahead of print] [PMID: 24014049]
 - 39 Lee KA, Park JH, Sohn TS, Kim S, Rhee JC, Kim JW. Interaction of polymorphisms in the interleukin 1B-31 and general transcription factor 2A1 genes on the susceptibility to gastric cancer. *Cytokine* 2007; 38: 96-100 [PMID: 17596959 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.05.008]
 - 40 Young GP. Diet and genomic stability. *Forum Nutr* 2007; 60: 91-96 [PMID: 17684404 DOI: 10.1159/000107077]
 - 41 Yuasa Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Hashimoto Y, Takizawa T, Kojima K, Kawano T, Sugihara K, Imai K, Nakachi K. DNA methylation status is inversely correlated with green tea intake and physical activity in gastric cancer patients. *Int J Cancer* 2009; 124: 2677-2682 [PMID: 19170207 DOI: 10.1002/ijc.24231]
 - 42 Pelucchi C, Tramacere I, Bertuccio P, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Dietary intake of selected micronutrients and gastric cancer risk: an Italian case-control study. *Ann Oncol* 2009; 20: 160-165 [PMID: 18669867]
 - 43 Chen SY, Liu TY, Shun CT, Wu MS, Lu TH, Lin JT, Sheu JC, Santella RM, Chen CJ. Modification effects of GSTM1, GSTT1 and CYP2E1 polymorphisms on associations between raw salted food and incomplete intestinal metaplasia in a high-risk area of stomach cancer. *Int J Cancer* 2004; 108: 606-612 [PMID: 14696128]
 - 44 Zhao JD, Geng PL, Li ZQ, Cui S, Zhao JH, Wang LJ, Li JZ, Ji FX, Li GY, Shen GS, Lin MZ, Shen CF, Cao CZ. Associations between interleukin-1 polymorphisms and gastric cancers among three ethnicities. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7093-7099 [PMID: 23323013 DOI: 10.3748/wjg.v18.i47.7093]
 - 45 Merry AH, Schouten LJ, Goldbohm RA, van den

应用要点

通过对近些年比较新、有影响力的研究报道及分析,为进一步阐明IL-1B与胃癌关系进行梳理,可能会对以后的研究有借鉴之处,乃至对胃癌的基因靶向治疗提供思考。

■同行评价

本文从病因学角度阐述胃癌的发生, 论述层次清晰, 具有一定的创新性。

- Brandt PA. Body mass index, height and risk of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia: a prospective cohort study. *Gut* 2007; 56: 1503-1511 [PMID: 17337464 DOI: 10.1136/gut.2006.116665]
- 46 Li HJ, Che XM, Zhao W, He SC, Zhang ZL, Chen R, Fan L, Jia ZL. Diet-induced obesity promotes murine gastric cancer growth through a nampt/sirt1/c-myc positive feedback loop. *Oncol Rep* 2013; 30: 2153-2160 [PMID: 23970286]
- 47 García Rodríguez LA, Lagergren J, Lindblad M. Gastric acid suppression and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma: a nested case control study in the UK. *Gut* 2006; 55: 1538-1544 [PMID: 16785284 DOI: 10.1136/gut.2005.086579]
- 48 Cover TL, Peek RM Jr. Diet, microbial virulence and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gut Microbes* 2013 Sep 3. [Epub ahead of print] [PMID: 23989802]
- 49 El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF, Rabkin CS. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404: 398-402 [PMID: 10746728 DOI: 10.1038/35006081]
- 50 Perez-Perez GI, Garza-Gonzalez E, Portal C, Olivares AZ. Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1869-1873 [PMID: 16103428 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0889]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

肝纤维化中表观遗传学调控的研究进展

李曼蓉, 陆伦根, 卜平

李曼蓉, 卜平, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科
江苏省扬州市 225001

陆伦根, 上海交通大学附属第一人民医院消化科 上海市
200080

李曼蓉, 硕士生, 主要从事消化系统疾病的临床及实验研究。

作者贡献分布: 本文综述由李曼蓉完成; 陆伦根与卜平负责审核。

通讯作者: 卜平, 教授, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市扬州大学
医学院广陵区淮海路11号, 扬州大学临床医学院苏北人民医
院消化内科. boping@yzu.edu.cn

电话: 0514-7978801

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-14

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Advances in research of epigenetic regulation in liver fibrosis

Man-Rong Li, Lun-Gen Lu, Ping Bu

Man-Rong Li, Ping Bu, Department of Gastroenterology,
Subei People's Hospital, Clinical Medical College of Yang-
zhou University, Yangzhou 225001, China

Lun-Gen Lu, Department of Gastroenterology, Shanghai
First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University,
Shanghai 200080, China

Correspondence to: Ping Bu, Professor, Chief Physician,
Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road,
Yangzhou, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-14

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

Liver fibrosis is a pathological repair process in response to chronic injury caused by various etiologies in the liver. Imbalance between the expression of pro-fibrosis genes and anti-fibrosis genes play a pivotal role in hepatic fibrosis. The important path of reversing liver fibrosis is the early diagnosis and effective treatment. Epigenetic modifications have been considered an initial event in the development of hepatic fibrosis. Epigenetic regulatory mechanisms in liver fibrosis are intricate, including DNA methylation, histone modification, and microRNAs (miRNAs). Recently, many researchers have studied the effect of fibrosis-related gene expression at the epigenetic level on hepatic stellate cell activation and myofibroblast differentiation in hepatic fibrosis. This review discusses the epigenetic regulation in liver fibrosis, with an aim to provide new insights into the early non-invasive

diagnosis, condition assessment and targeted therapy of this disease.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Epigenetics; Hepatic stellate cells; Myofibroblasts

Li MR, Lu LG, Bu P. Advances in research of epigenetic regulation in liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3499-3504 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3499.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3499>

摘要

肝纤维化是机体对各种病因引起的肝脏的慢性损伤所产生的病理性修复的累积过程。促纤维化与抗纤维化基因表达失衡, 是发生肝纤维化的中心环节。早期诊断与有效治疗是逆转肝纤维化的重要途径。表观遗传学改变被认为是肝纤维化发生过程中的早期事件。肝纤维化的表观遗传学调控机制错综复杂, 主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、microRNAs(miRNAs)等。近年来较多学者从表观遗传学水平探讨肝纤维化相关基因的表达及对肝星状细胞的活化、肌成纤维细胞的分化等的调控, 进一步揭示肝纤维化的发病机制。本文就肝纤维化的表观遗传学调控作一综述, 为肝纤维化的诊断、病情评估及靶向治疗提供新思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 表观遗传学; 肝星状细胞; 肌成纤维细胞

核心提示: 表观遗传学主要通过影响纤维化相关基因表达、肝星状细胞(hepatic stellate cells)的活化、增殖、凋亡及肌成纤维细胞(myofibroblasts)分化来调控肝纤维的发生发展。

李曼蓉, 陆伦根, 卜平. 肝纤维化中表观遗传学调控的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(32): 3499-3504 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3499.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3499>

■背景资料

肝纤维化是机体对各种病因引起的肝脏的慢性损伤所产生的病理性修复的累积。目前认为肝纤维化是双向可逆的, 但其早期无创诊断及有效治疗仍是亟待解决的难题。表观遗传学改变作为肝纤维化发生过程中的早期事件, 从DNA甲基化、组蛋白修饰、MicroRNAs三方面进行调控。

■同行评议者

李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科

■ 研发前沿

近年来研究证实, 表观遗传学参与并调控了肝纤维化的发生发展, 这些发现为肝纤维化的无创诊断、病情评估及靶向治疗提供了新的手段及思路。

0 引言

肝纤维化是机体对各种病因引起的肝脏的慢性损伤所产生的病理性修复的累积过程。目前认为肝纤维化是双向可逆的, 但其早期无创诊断及有效治疗仍是亟待解决的难题。近年来, 随着人类基因组计划的完成, 人们把视角由宏观转移到微观, 由遗传学转移到表观遗传学。表观遗传学改变不涉及DNA序列的改变, 却与肿瘤及许多其他疾病的发生发展有着较为密切的联系。表观遗传学的表型改变可能会遗传给子代, 影响子代基因的表达。但庆幸的是, 表观遗传学水平的改变早于蛋白水平的改变, 且这种改变是可以逆转的。因此, 近年来, 众多肝病学者关注于表观遗传学改变对纤维化相关基因表达及肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的活化、肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFs)分化的影响, 为肝纤维化的无创诊断及逆转纤维化进程提供科学依据。表观遗传学分子机制主要包括: DNA甲基化、组蛋白修饰、miRNAs、染色质重塑等。其中以前三者与肝纤维化的相关研究较多。本文就肝纤维化的表观遗传学调控作一综述。

近年来, 大多数研究用单一的表观遗传学改变解释其与肝纤维化发生发展的相关性, 也有学者提出在肝纤维化发生过程中, DNA甲基化、组蛋白乙酰化、miRNAs三者可能存在相互影响的潜在的联系^[1-3]。但肝纤维化中的表观遗传学改变, 是单一、串扰还是联合调控的确切机制仍不十分清楚。

1 DNA甲基化

DNA甲基化是研究最早的表观遗传学修饰方式。DNA甲基化是DNA复制后的一种酶促反应, 一般从全基因组DNA甲基化水平及特定基因启动子区域的CPG岛5-氟胞嘧啶的甲基化状态这两方面来探讨甲基化的改变。基因发生超甲基化后, 多下调该基因的表达, 反之, 基因的低甲基化多上调该基因的表达。

在肝纤维化中, 纤维化相关基因的甲基化状态及水平均表现出较明显的差异。学者们在肝纤维化的动物实验及临床实验中, 发现*hMSH3*、*MGMT*、*RASSF1A*、*PTEN*、*GSTM3*、转化生长因子- β 1(transforming factor β 1, *TGF- β 1*)等基因易发生超甲基化^[4-8], 而*hMLH1*、*MSI*、*NORE1A*、*Spp1*则很少发生甲基化^[5,7,9], *PPAR- γ* 、*PTCH1*易出现表观沉默^[4,10]。特定基因的甲基化状态不仅能作为肝纤维化的标

志物, 还可以初步提示纤维化程度及疾病的病情。Qi等^[6]指出*GSTM3*启动子甲基化可能与慢加急性乙型肝炎肝衰竭(acute-on-chronic hepatitis B liver failure, ACHBLF)的严重程度相关。HSCs的活化作为肝纤维化过程中的关键事件, 也与DNA甲基化状态密切相关。学者研究指出PTEN的超甲基化可激活P13K/AKT与ERK通路, 参与HSCs的活化及肝纤维化形成的调控^[8]。肿瘤学者在DNA甲基化方面研究显示, 多数肿瘤易同时伴随全基因组DNA甲基化水平的降低与抑癌基因、DNA修复基因的超甲基化改变。在肝纤维化中也有类似的发现, Komatsu等^[9]研究发现在肝纤维化动物模型中, 全基因组DNA甲基化水平降低, 同时纤维化相关基因*Spp1*出现低甲基化而其表达上调。

2 组蛋白修饰

组蛋白修饰主要包括乙酰化、甲基化、泛素化及磷酸化等方式。在肝纤维化中, 目前以乙酰化与甲基化的研究较为多见。组蛋白修饰多发生在转录后水平, 调控基因的表达。组蛋白乙酰化一般使转录激活, 上调基因的表达; 而组蛋白甲基化则多引起基因的沉默, 下调基因的表达。

2.1 组蛋白去乙酰化抑制剂与肝纤维化 近年来, 组蛋白去乙酰化抑制剂越来越多的应用到动物及临床试验中, 从HSCs的活化、增殖和凋亡及MFs的分化等多条途径调控肝纤维化的发生发展过程。其中, TSA可能通过抑制HSCs中肌动蛋白肌丝的生成及迁移, 从而阻止HSCs向MFs转化。II类组蛋白去乙酰化酶抑制剂通过明显上调miR-29从而阻碍HSCs的活化^[11]。组蛋白去乙酰化抑制剂-辛二酰苯胺异羟肟酸(N-hydroxy-N-phenyloctanediamide, SAHA)抑制丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的复制, 可能用来治疗HCV相关的肝硬化或肝癌^[12]。2',4',6'-三(甲氧基甲氧基)查耳酮[2',4',6'-tris(methoxymethoxy) chalcone, TMMC]、尼洛替尼可能通过抑制组蛋白去乙酰化来诱导活化的HSCs发生凋亡和自噬性细胞死亡^[13,14]。组蛋白去乙酰化抑制剂可能通过抑制TGF- β 1诱导的上皮间质转化, 阻断TGF- β 1的自分泌环来减轻其诱导的胶原合成, 抑制血管内皮生长因子来降低血管生成, 表观沉默基质金属蛋白酶等途径, 从而阻止肝纤维化的发生、发展^[15-18]。

2.2 组蛋白甲基化与肝纤维化 近几年来, 组蛋白的甲基化修饰也越来越受到重视, 肝纤维

表 1 肝纤维化相关miRNAs

抗纤维化相关miRNAs	促纤维化相关miRNAs	
miR-132 ^[3]	miR-328 ^[21]	miR-9 ^[41]
miR-26a ^[21]	miR-299-5p ^[21]	miR-125b ^[41]
miR-122 ^[21,22,46]	miR-34a ^[23,34,35]	miR-128 ^[41]
rno-miR-878 ^[23]	miR-571 ^[27]	miR-27a/b ^[47]
miR-29a/b ^[24,25,39,49,50]	miR-199a/b ^[28,29]	miR-221 ^[48]
miR-19b ^[26]	miR-200a/b ^[28,29,34]	miR-222 ^[48]
miR-652 ^[27]	miR-615-5p ^[30]	
miR-449a ^[38]	miR-106b ^[31]	
miR-146a ^[40,51]	miR-181a/b ^[31,32]	
miR-15b ^[42]	miR-506 ^[33]	
miR-16 ^[42]	miR-155 ^[34]	
miR-194 ^[43]	miR-29c ^[34]	
miR-150 ^[43,45]	miR-92a ^[37]	
miR-335 ^[44]	miR-20a ^[37]	

化相关的组蛋白甲基化修饰的相关研究也开始崭露头角。Perugorria等^[19]发现组蛋白甲基转移酶ASH1直接绑定于活化的HSCs中 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、I型胶原、金属基质蛋白酶组织抑制因-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、TGF β 1所在区域, ASH1的消失会极大地抑制纤维化基因的表达。甲基化CpG岛结合蛋白2(methyl-CpG-binding protein 2, MeCP2)正调控ASH1的表达, 提出ASH1作为MeCP2表观遗传学调控通路中的一个关键的转录活性成分共同调节多个纤维化相关基因的表达。Krämer等^[20]发现组蛋白H3K27的三甲基化通过激活成纤维细胞来诱导纤维化的发生。

3 miRNAs

miRNAs是一类分布广泛的内源性非编码小RNA, 也在转录后水平调控基因的表达。越来越多的研究表明肝纤维化与miRNAs密切相关。目前, 发现与肝纤维化相关的miRNAs约30多个, 多呈差异性表达。肝纤维化中, 促纤维化相关的miRNAs多发生上调, 抗纤维化相关的miRNAs多发生下调。

3.1 miRNAs在肝纤维化中的差异性表达 在多项肝纤维化研究中, 组织或血标本中miR-122、miR-26a、rno-miR-878、miR-29、miR-19b、miR-652多发生下调, 与肝纤维化呈负相关^[21-27]; 而miR-328、miR-299-5p、miR-34家族、miR-199家族、miR-200家族、miR-615-5p、miR-106b、miR-181b、miR-571、

miR-506、miR-29c、miR-155多发生上调, 与肝纤维化呈正相关^[21,23,27-34], 如表1。miRNAs水平的高低在一定程度上提示肝纤维化的严重程度, 对评估病情、治疗效果的判断等有一定的指导意义。Waidmann等^[22]研究发现肝硬化失代偿期患者的miR-122水平较代偿期患者低, 且伴有腹水、自发性细菌性腹膜炎、肝肾综合征等并发症患者的miR-122水平较不伴这些并发症患者的明显降低。提出血清miR-122可能提示肝纤维化患者的生存。Murakami等^[29]研究发现肝纤维化的进展与miR-199家族及miR-200家族的过表达密切相关。Pogribny等^[34]研究指出NASH的进展与miR-29c、miR-34a、miR-155、miR-200b表达的改变密切相关。单个miRNA的改变可能不足以诊断肝纤维化, 学者Chen等^[31]研究指出miR-106b和miR-181b同时出现可作为肝纤维化的生物学标志物。同一家族中miRNA在疾病中可能表现出一致性或者差异性表达, miR-34家族、miR-199家族、miR-200家族的表达在肝纤维化中较一致地发生上调, 而多位学者研究显示miR-29a/b与肝纤维化成负相关^[24,25,35-37], Pogribny等^[34]研究发现miR-29c却与肝纤维化呈正相关。Wang等^[32]研究表明肝硬化患者血清中miR-181b水平较正常对照明显增高, 但miR-181a水平在两组患者中无显著差异。

3.2 miRNAs与肝纤维化的病因 近年来, 肝纤维化起病的相关因素如乙醇、HCV、丁型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV)等与miRNAs的研究的也有部分报道。miR-34a可能与乙醇摄入相关, 在酒精性肝纤维化中miR-34a的表达上调^[38]。Bae等^[39]研究结果显示miR-101-1与miR-101-2的遗传变异与HBV所致的肝硬化和肝癌显著相关。HCV感染相关肝病患者中miR-20a、miR-92a的表达出现上调^[40], 而miRNA-449a出现了下调^[41]。Zhang等^[35]研究指出雌激素作为肝纤维化的保护性因素, 可能通过诱导miR-29的表达来抑制四氯化碳引起的肝损伤, 发现雄性肝纤维化小鼠中miR-29a、miR-29b水平显著降低, 而在雌性鼠中没有统计学差异。

3.3 miRNAs对肝纤维的调控机制 较多研究显示, HSCs的激活与MFs的分化被认为是肝纤维化发生过程中的必要非充分条件。研究发现越来越多的miRNAs通过参与MFs的分化与HSCs的活化、增殖和凋亡来调控肝纤维化的纤维生成。在MFs的分化过程中, miR-146a表达出现下调^[42], 而miR-9、miR-125b、miR-128的表

■相关报道

肝纤维化中特定基因的DNA甲基化、组蛋白乙酰化与甲基化、MicroRNAs均呈现差异性表达, 并调控HSCs的活化、增殖、凋亡及MFs的分化。

■创新盘点

本文对DNA甲基化、组蛋白修饰、microRNAs在肝纤维化中的纤维化相关基因的差异性表达及其作用机制做一综述,为进一步探究表观遗传学如何调控并逆转肝纤维化提供新的着眼点。

达均明显增高^[43]。Guo等^[44]研究发现HSCs的激活与21个miRNA相关,其中有12个miRNA发生上调,9个miRNA产生下调。其中miR-15b和miR-16通过Bcl-2及Caspase信号通过诱导HSCs的凋亡。诸多研究发现miR-150、miR-194、miR-335、miR-122^[45-48]与HSCs的活化呈负相关,而miR-27a、miR-27b、miR-221、miR-222、miR-29^[36,37,49,50]与HSCs的活化成正相关。miR-27a、miR-27b、miR-146a、miR-181a可诱导的HSCs的增殖,增加HSCs的凋亡^[-32,49,51]。

4 结论

肝纤维化的发病机制,需要大量深入的基础及临床研究才能为我们对其有较充分的认识提供足够的科学证据。近年来,学者们积极探索肝纤维化中表观遗传学水平的调控,为肝纤维化的靶向治疗提供了思路。再者肝纤维化诊断的金标准是有创的肝组织病理学检查,且因所取组织的局限性、并发症的发生风险及患者的合作度不够满意等,使大家更期待血液学指标能作为早期无创的诊断、病情评估的标准。表观遗传学改变作为一个信使,为我们开启了肝纤维化的无创诊断及靶向治疗的希望之门。

在近年来的研究中,我们发现甲基化水平的高低在一定程度上反映了肝纤维化的进程,致纤维化相关基因或细胞因子大多出现异常超甲基化,而抗纤维化相关基因则较易出现异常低甲基化。这为肝纤维化的无创诊断及病情评估提供了手段,同时为应用去甲基化治疗肝纤维化提供了理论依据。组蛋白乙酰化与miRNA都在转录后水平积极地参与了HSCs的增殖、活化和凋亡及MFs的分化的调控。在较多的基础及临床研究中,组蛋白去乙酰化抑制剂可能作为潜在的抗肝纤维化药物得到应用。在肝纤维化发生过程中,近期发现越来越多的miRNAs呈差异性表达。目前,发现纤维化相关的miRNAs多达30多个。在肝纤维化中,miRNAs通过多种细胞因子和信号通路调控胶原及细胞外基质的产生。miRNAs可能作为信号分子为肝纤维化的诊断及病情评估提供新的无创手段,可作为治疗靶点为逆转肝纤维化提供广泛的前景。

总之,肝纤维化中表观遗传学调控得到了广泛的关注。近年来,越来越多的肝病学家积极探讨表观遗传学改变在肝纤维化中的影响,特定基因的甲基化、乙酰化及miRNAs的差异性表达均可能作为肝纤维化的信号分子,在诊断

肝纤维化及初步评估其严重程度方面发挥不可估量的作用。但肝纤维化的表观遗传学调控机制尚不清楚,DNA甲基化、组蛋白乙酰化、miRNAs之间的联系仍不明确。三者之间可能存在串扰或相互促进,进而启动或参与肝纤维化的纤维化进程。故仍需大量的相关研究来进一步阐明肝纤维化中表观遗传学水平的调控机制,进一步为肝纤维化的早期的无创诊断及靶向治疗提供新视野。

5 参考文献

- 1 Sun X, He Y, Huang C, Ma TT, Li J. The epigenetic feedback loop between DNA methylation and microRNAs in fibrotic disease with an emphasis on DNA methyltransferases. *Cell Signal* 2013; 25: 1870-1876 [PMID: 23707521 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.05.013]
- 2 Bian EB, Zhao B, Huang C, Wang H, Meng XM, Wu BM, Ma TT, Zhang L, Lv XW, Li J. New advances of DNA methylation in liver fibrosis, with special emphasis on the crosstalk between microRNAs and DNA methylation machinery. *Cell Signal* 2013; 25: 1837-1844 [PMID: 23707524 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.05.017]
- 3 Mann J, Chu DC, Maxwell A, Oakley F, Zhu NL, Tsukamoto H, Mann DA. MeCP2 controls an epigenetic pathway that promotes myofibroblast transdifferentiation and fibrosis. *Gastroenterology* 2010; 138: 705-714, 714.e1-4 [PMID: 19843474 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.002]
- 4 Zeybel M, Hardy T, Wong YK, Mathers JC, Fox CR, Gackowska A, Oakley F, Burt AD, Wilson CL, Anstee QM, Barter MJ, Masson S, Elsharkawy AM, Mann DA, Mann J. Multigenerational epigenetic adaptation of the hepatic wound-healing response. *Nat Med* 2012; 18: 1369-1377 [PMID: 22941276 DOI: 10.1038/nm.2893]
- 5 Park JH, Cho SB, Lee WS, Park CH, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS, Lee JH, Kim SJ. [Methylation pattern of DNA repair genes and microsatellite instability in hepatocellular carcinoma]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 48: 327-336 [PMID: 17132921]
- 6 Qi L, Zou ZQ, Wang LY, Gao S, Fan YC, Long B, Guo YM, Xu AL, Han J, Li T, Wang K. Methylation of the glutathione-S-transferase M3 gene promoter is associated with oxidative stress in acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Tohoku J Exp Med* 2012; 228: 43-51 [PMID: 22976281 DOI: 10.1620/tjem.228.43]
- 7 Di Gioia S, Bianchi P, Destro A, Grizzi F, Malesci A, Laghi L, Levrero M, Morabito A, Roncalli M. Quantitative evaluation of RASSF1A methylation in the non-lesional, regenerative and neoplastic liver. *BMC Cancer* 2006; 6: 89 [PMID: 16606445]
- 8 Bian EB, Huang C, Ma TT, Tao H, Zhang H, Cheng C, Lv XW, Li J. DNMT1-mediated PTEN hypermethylation confers hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 264: 13-22 [PMID: 22841775 DOI: 10.1016/j.taap.2012.06.022]
- 9 Komatsu Y, Waku T, Iwasaki N, Ono W, Yamaguchi C, Yanagisawa J. Global analysis of DNA methylation in early-stage liver fibrosis. *BMC*

- Med Genomics* 2012; 5: 5 [PMID: 22281153 DOI: 10.1186/1755-8794-5-5]
- 10 Yang JJ, Tao H, Huang C, Shi KH, Ma TT, Bian EB, Zhang L, Liu LP, Hu W, Lv XW, Li J. DNA methylation and MeCP2 regulation of PTC1 expression during rats hepatic fibrosis. *Cell Signal* 2013; 25: 1202-1211 [PMID: 23333245 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.01.005]
 - 11 Mannaerts I, Eysackers N, Onyema OO, Van Beneden K, Valente S, Mai A, Odenthal M, van Grunsven LA. Class II HDAC inhibition hampers hepatic stellate cell activation by induction of microRNA-29. *PLoS One* 2013; 8: e55786 [PMID: 23383282 DOI: 10.1371/journal.pone.0055786]
 - 12 Sato A, Saito Y, Sugiyama K, Sakasegawa N, Muramatsu T, Fukuda S, Yoneya M, Kimura M, Ebinuma H, Hibi T, Ikeda M, Kato N, Saito H. Suppressive effect of the histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) on hepatitis C virus replication. *J Cell Biochem* 2013; 114: 1987-1996 [PMID: 23519646 DOI: 10.1002/jcb.24541]
 - 13 Lee SH, Zhao YZ, Park EJ, Che XH, Seo GS, Sohn DH. 2',4',6'-Tris(methoxymethoxy) chalcone induces apoptosis by enhancing Fas-ligand in activated hepatic stellate cells. *Eur J Pharmacol* 2011; 658: 9-15 [PMID: 21349266 DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.01.067]
 - 14 Shaker ME, Ghani A, Shiha GE, Ibrahim TM, Mehal WZ. Nilotinib induces apoptosis and autophagic cell death of activated hepatic stellate cells via inhibition of histone deacetylases. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 1992-2003 [PMID: 23499874 DOI: 10.1016/j.bbamer.2013.02.033]
 - 15 Liu Y, Wang Z, Wang J, Lam W, Kwong S, Li F, Friedman SL, Zhou S, Ren Q, Xu Z, Wang X, Ji L, Tang S, Zhang H, Lui EL, Ye T. A histone deacetylase inhibitor, largazole, decreases liver fibrosis and angiogenesis by inhibiting transforming growth factor- β and vascular endothelial growth factor signalling. *Liver Int* 2013; 33: 504-515 [PMID: 23279742 DOI: 10.1111/liv.12034]
 - 16 Kaimori A, Potter JJ, Choti M, Ding Z, Mezey E, Koteish AA. Histone deacetylase inhibition suppresses the transforming growth factor beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocytes. *Hepatology* 2010; 52: 1033-1045 [PMID: 20564330 DOI: 10.1002/hep.23765]
 - 17 Qin L, Han YP. Epigenetic repression of matrix metalloproteinases in myofibroblastic hepatic stellate cells through histone deacetylases 4: implication in tissue fibrosis. *Am J Pathol* 2010; 177: 1915-1928 [PMID: 20847282 DOI: 10.2353/ajpath.2010.100011]
 - 18 Watanabe T, Tajima H, Hironori H, Nakagawa H, Ohnishi I, Takamura H, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida S, Tani T, Fujimura T, Ota T, Wakayama T, Iseki S, Harada S. Sodium valproate blocks the transforming growth factor (TGF)- β 1 autocrine loop and attenuates the TGF- β 1-induced collagen synthesis in a human hepatic stellate cell line. *Int J Mol Med* 2011; 28: 919-925 [PMID: 21822535 DOI: 10.3892/ijmm.2011.768]
 - 19 Perugorria MJ, Wilson CL, Zeybel M, Walsh M, Amin S, Robinson S, White SA, Burt AD, Oakley F, Tsukamoto H, Mann DA, Mann J. Histone methyltransferase ASH1 orchestrates fibrogenic gene transcription during myofibroblast transdifferentiation. *Hepatology* 2012; 56: 1129-1139 [PMID: 22488473 DOI: 10.1002/hep.25754]
 - 20 Krämer M, Dees C, Huang J, Schlottmann I, Palumbo-Zerr K, Zerr P, Gelse K, Beyer C, Distler A, Marquez VE, Distler O, Schett G, Distler JH. Inhibition of H3K27 histone trimethylation activates fibroblasts and induces fibrosis. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 614-620 [PMID: 22915621 DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-201615]
 - 21 Padgett KA, Lan RY, Leung PC, Lleo A, Dawson K, Pfeiff J, Mao TK, Coppel RL, Ansari AA, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis is associated with altered hepatic microRNA expression. *J Autoimmun* 2009; 32: 246-253 [PMID: 19345069 DOI: 10.1016/j.jaut.2009.02.022]
 - 22 Waidmann O, Köberle V, Brunner F, Zeuzem S, Piiper A, Kronenberger B. Serum microRNA-122 predicts survival in patients with liver cirrhosis. *PLoS One* 2012; 7: e45652 [PMID: 23029162 DOI: 10.1371/journal.pone.0045652]
 - 23 Li WQ, Chen C, Xu MD, Guo J, Li YM, Xia QM, Liu HM, He J, Yu HY, Zhu L. The rno-miR-34 family is upregulated and targets ACSL1 in dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *FEBS J* 2011; 278: 1522-1532 [PMID: 21366874 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08075.x]
 - 24 Kogure T, Costinean S, Yan I, Braconi C, Croce C, Patel T. Hepatic miR-29ab1 expression modulates chronic hepatic injury. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2647-2654 [PMID: 22469499 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2012.01578.x]
 - 25 Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, Vucur M, Zimmermann H, Schmidt S, Janssen J, Koppe C, Knolle P, Castoldi M, Tacke F, Trautwein C, Luedde T. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. *Hepatology* 2011; 53: 209-218 [PMID: 20890893 DOI: 10.1002/hep.23922]
 - 26 Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, Ghosh S, Li T, McKillop IH, Russo MW, Bonkovsky HL, Schrum LW. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology* 2012; 56: 300-310 [PMID: 22278637 DOI: 10.1002/hep.25613]
 - 27 Roderburg C, Mollnow T, Bongaerts B, Elfimova N, Vargas Cardenas D, Berger K, Zimmermann H, Koch A, Vucur M, Luedde M, Hellerbrand C, Odenthal M, Trautwein C, Tacke F, Luedde T. Micro-RNA profiling in human serum reveals compartment-specific roles of miR-571 and miR-652 in liver cirrhosis. *PLoS One* 2012; 7: e32999 [PMID: 22412969 DOI: 10.1371/journal.pone.0032999]
 - 28 Hassan ZK, Al-Olayan EM. Curcumin reorganizes miRNA expression in a mouse model of liver fibrosis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5405-5408 [PMID: 23317191]
 - 29 Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Harada Y, Matsuda F, Tajima A, Kosaka N, Ochiya T, Shimotohno K. The progression of liver fibrosis is related with overexpression of the miR-199 and 200 families. *PLoS One* 2011; 6: e16081 [PMID: 21283674 DOI: 10.1371/journal.pone.0016081]
 - 30 El Tayebi HM, Hosny KA, Esmat G, Breuhahn K, Abdelaziz AI. miR-615-5p is restrictedly expressed in cirrhotic and cancerous liver tissues and its overexpression alleviates the tumorigenic effects in hepatocellular carcinoma. *FEBS Lett* 2012; 586: 3309-3316 [PMID: 22819824 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.06.054]

应用要点

表观遗传学改变作为肝纤维化的早期事件, 为肝纤维化的无创诊断、病情评估及靶向治疗提供新的手段与思路, 为临床决策者提供参考。

■同行评价

本文对临床有一定的指导意义。

- 31 Chen YJ, Zhu JM, Wu H, Fan J, Zhou J, Hu J, Yu Q, Liu TT, Yang L, Wu CL, Guo XL, Huang XW, Shen XZ. Circulating microRNAs as a Fingerprint for Liver Cirrhosis. *PLoS One* 2013; 8: e66577 [PMID: 23805240]
- 32 Wang B, Li W, Guo K, Xiao Y, Wang Y, Fan J. miR-181b promotes hepatic stellate cells proliferation by targeting p27 and is elevated in the serum of cirrhosis patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 421: 4-8 [PMID: 22446332 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.03.025]
- 33 Banales JM, Sáez E, Uriz M, Sarvide S, Urribarri AD, Splinter P, Tietz Bogert PS, Bujanda L, Prieto J, Medina JF, LaRusso NF. Up-regulation of microRNA 506 leads to decreased Cl-/HCO3- anion exchanger 2 expression in biliary epithelium of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2012; 56: 687-697 [PMID: 22383162 DOI: 10.1002/hep.25691]
- 34 Pogribny IP, Starlard-Davenport A, Tryndyak VP, Han T, Ross SA, Rusyn I, Beland FA. Difference in expression of hepatic microRNAs miR-29c, miR-34a, miR-155, and miR-200b is associated with strain-specific susceptibility to dietary nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Lab Invest* 2010; 90: 1437-1446 [PMID: 20548288 DOI: 10.1038/labinvest.2010.113]
- 35 Zhang Y, Wu L, Wang Y, Zhang M, Li L, Zhu D, Li X, Gu H, Zhang CY, Zen K. Protective role of estrogen-induced miRNA-29 expression in carbon tetrachloride-induced mouse liver injury. *J Biol Chem* 2012; 287: 14851-14862 [PMID: 22393047 DOI: 10.1074/jbc.M111.314922]
- 36 Sekiya Y, Ogawa T, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Suppression of hepatic stellate cell activation by microRNA-29b. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412: 74-79 [PMID: 21798245 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.07.041]
- 37 Bandyopadhyay S, Friedman RC, Marquez RT, Keck K, Kong B, Icardi MS, Brown KE, Burge CB, Schmidt WN, Wang Y, McCaffrey AP. Hepatitis C virus infection and hepatic stellate cell activation downregulate miR-29: miR-29 overexpression reduces hepatitis C viral abundance in culture. *J Infect Dis* 2011; 203: 1753-1762 [PMID: 21606534 DOI: 10.1093/infdis/jir186]
- 38 Meng F, Glaser SS, Francis H, Yang F, Han Y, Stokes A, Staloch D, McCarra J, Liu J, Venter J, Zhao H, Liu X, Francis T, Swendsen S, Liu CG, Tsukamoto H, Alpini G. Epigenetic regulation of miR-34a expression in alcoholic liver injury. *Am J Pathol* 2012; 181: 804-817 [PMID: 22841474 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.06.010]
- 39 Bae JS, Kim JH, Pasaje CF, Cheong HS, Lee TH, Koh IS, Lee HS, Kim YJ, Shin HD. Association study of genetic variations in microRNAs with the risk of hepatitis B-related liver diseases. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 849-854 [PMID: 22658643 DOI: 10.1016/j.dld.2012.04.021]
- 40 Shrivastava S, Petrone J, Steele R, Lauer GM, Di Bisceglie AM, Ray RB. Up-regulation of circulating miR-20a is correlated with hepatitis C virus-mediated liver disease progression. *Hepatology* 2013; 58: 863-871 [PMID: 23390075 DOI: 10.1002/hep.26296]
- 41 Sarma NJ, Tiriveedhi V, Subramanian V, Shenoy S, Crippin JS, Chapman WC, Mohanakumar T. Hepatitis C virus mediated changes in miRNA-449a modulates inflammatory biomarker YKL40 through components of the NOTCH signaling pathway. *PLoS One* 2012; 7: e50826 [PMID: 23226395 DOI: 10.1371/journal.pone.0050826]
- 42 Liu Z, Lu CL, Cui LP, Hu YL, Yu Q, Jiang Y, Ma T, Jiao DK, Wang D, Jia CY. MicroRNA-146a modulates TGF-β1-induced phenotypic differentiation in human dermal fibroblasts by targeting SMAD4. *Arch Dermatol Res* 2012; 304: 195-202 [PMID: 21968601 DOI: 10.1007/s00403-011-1178-0]
- 43 Noetel A, Elfimova N, Altmüller J, Becker C, Becker D, Lahr W, Nürnberg P, Wasmuth H, Teufel A, Büttner R, Dienes HP, Odenthal M. Next generation sequencing of the Ago2 interacting transcriptome identified chemokine family members as novel targets of neuronal microRNAs in hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2013; 58: 335-341 [PMID: 23041308 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.024]
- 44 Guo CJ, Pan Q, Li DG, Sun H, Liu BW. miR-15b and miR-16 are implicated in activation of the rat hepatic stellate cell: An essential role for apoptosis. *J Hepatol* 2009; 50: 766-778 [PMID: 19232449 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.025]
- 45 Venugopal SK, Jiang J, Kim TH, Li Y, Wang SS, Torok NJ, Wu J, Zern MA. Liver fibrosis causes down-regulation of miRNA-150 and miRNA-194 in hepatic stellate cells, and their overexpression causes decreased stellate cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G101-G106 [PMID: 19892940 DOI: 10.1152/ajpgi.00220.2009]
- 46 Chen C, Wu CQ, Zhang ZQ, Yao DK, Zhu L. Loss of expression of miR-335 is implicated in hepatic stellate cell migration and activation. *Exp Cell Res* 2011; 317: 1714-1725 [PMID: 21586285 DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.05.001]
- 47 Zheng J, Lin Z, Dong P, Lu Z, Gao S, Chen X, Wu C, Yu F. Activation of hepatic stellate cells is suppressed by microRNA-150. *Int J Mol Med* 2013; 32: 17-24 [PMID: 23604143 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1356]
- 48 Li J, Ghazwani M, Zhang Y, Lu J, Li J, Fan J, Gandhi CR, Li S. miR-122 regulates collagen production via targeting hepatic stellate cells and suppressing P4HA1 expression. *J Hepatol* 2013; 58: 522-528 [PMID: 23178710 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.011]
- 49 Ji J, Zhang J, Huang G, Qian J, Wang X, Mei S. Over-expressed microRNA-27a and 27b influence fat accumulation and cell proliferation during rat hepatic stellate cell activation. *FEBS Lett* 2009; 583: 759-766 [PMID: 19185571 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.01.034]
- 50 Ogawa T, Enomoto M, Fujii H, Sekiya Y, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. MicroRNA-221/222 up-regulation indicates the activation of stellate cells and the progression of liver fibrosis. *Gut* 2012; 61: 1600-1609 [PMID: 22267590]
- 51 He Y, Huang C, Sun X, Long XR, Lv XW, Li J. MicroRNA-146a modulates TGF-beta1-induced hepatic stellate cell proliferation by targeting SMAD4. *Cell Signal* 2012; 24: 1923-1930 [PMID: 22735812 DOI: 10.1016/j.cel]

编辑 田滢 电编 闫晋利



自身免疫性胰腺炎的研究进展

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院
消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事胃肠动力疾病、
消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本综述由黄颖秋独立完成。

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 117000, 辽宁省
本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪
钢铁(集团)总医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137

收稿日期: 2013-08-25 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-18

Current status of research on autoimmune pancreatitis

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, the Fifth Clinical College of China Medical
University; Department of Gastroenterology, General
Hospital of Benxi Steel & Iron (Group), Benxi 117000, Lia-
oning Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Chief
Physician, the Fifth Clinical College of China Medical Uni-
versity; Department of Gastroenterology, General Hospital
of Benxi Steel & Iron (Group), 29 Renmin Road, Pingshan
District, Benxi 117000, Liaoning Province,
China. huangyingqiu_bx@126.com

Received: 2013-08-25 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-18

Abstract

Autoimmune pancreatitis (AIP) is a form of chronic pancreatitis characterized clinically by frequent presentation with obstructive jaundice, histologically by lymphoplasmacytic infiltration with fibrosis, and therapeutically by a dramatic response to steroids. AIP have recently been clas-
sified into two subtypes, lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis (LPSP) and idiopathic duct centric pancreatitis (IDCP). The pathogenesis of AIP may involve genetic susceptibility, autoanti-
bodies, molecular mimicry, imbalance of T-cell-mediated immune regulation, and gene mutation. In this article, we will systematically review typi-
cal and atypical clinical, imaging and histopatho-
logical features of AIP, with an emphasis placed on the advances in the diagnosis and treatment of this disease.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune pancreatitis; IgG4-related disease; Genetic susceptibility; Autoantibodies; T lymphocytes; Molecular mimicry; Diagnosis; Therapy

Huang YQ. Current status of research on autoimmune pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3505-3513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3505.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3505>

摘要

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)是一种慢性胰腺炎症,以慢性阻塞性黄疸、淋巴浆细胞组织浸润、纤维化以及对类固醇激素治疗应答为特征。AIP分2个亚型,1型为淋巴浆细胞硬化性胰腺炎(lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis, LPSP),2型为特发性导管中心性胰腺炎(idiopathic duct centric pancreatitis, IDCP)。AIP的发病机制可能涉及遗传易感性、自身抗体、分子模拟、T细胞免疫调节失衡以及基因突变等。本文系统地阐述了AIP患者的临床、影像及组织病理学的典型及非典型特征。此外,本文还重点阐述了AIP的诊断和治疗进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性胰腺炎; IgG4相关性疾病; 遗传易感性; 自身抗体; T淋巴细胞; 分子模拟; 诊断; 治疗

核心提示: 自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)的发病机制可能涉及遗传易感性、免疫异常、分子模拟及基因突变等,尽管类固醇治疗AIP有效,但治疗后复发以及其与胰腺癌(pancreatic cancer)的鉴别诊断仍面临挑战。

黄颖秋. 自身免疫性胰腺炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(32): 3505-3513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3505.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3505>

0 引言

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)是由自身免疫介导的慢性胰腺炎症,以慢性阻

■背景资料

1995年,日本学者Yoshida首次报道了以血清IgG4水平升高、胰腺肿大及IgG4⁺淋巴浆细胞组织浸润为特征的一种慢性纤维炎症性疾病,即自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)。近年来, AIP已成为新的国际研究热点。随着研究不断深入, AIP的基础与临床研究已取得飞速进展。

■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

■ 研发前沿

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)的临床及影像学特征有时酷似胰腺癌(pancreatic cancer, PC),因此迫切需要精确的诊断方法予以鉴别,检测EUS-FNA标本内K-ras基因的突变、抑癌基因的丢失及端粒酶活性等或许有助于AIP与PC的鉴别诊断。因此,研究EUS-FNA标本中K-ras基因突变及抑癌基因杂合子的丢失情况应是目前努力的方向。

塞性黄疸、淋巴浆细胞组织浸润、纤维化以及对类固醇激素治疗应答为特征^[1]。最近,AIP国际共识诊断标准(International Consensus Diagnostic Criteria, ICDC)将AIP分为1、2两个亚型^[1,2]。1型AIP是以胰腺为表现形式的多器官疾病,属IgG4相关性疾病(IgG4-related disease, IgG4-RD),其对类固醇敏感,但易复发,长期应用小剂量类固醇可减少其复发^[1]。2型AIP与IgG4无关,常见于年轻患者,同样伴有阻塞性黄疸和胰腺炎症,对类固醇敏感,但罕有复发^[1]。ICDC分别将1型AIP称为淋巴浆细胞硬化性胰腺炎(lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis, LPSP),2型AIP称为特发性导管中心性胰腺炎(idiopathic duct-centric chronic pancreatitis, IDCP)^[2,3],前者不伴粒细胞上皮损伤(granulocyte epithelial lesions, GELs),而后者伴有GELs,并可致中小胰管或腺泡的破坏和闭塞^[3]。Kamisawa等^[4]研究显示,AIP存在地域差异,LPSP与IDCP不仅病理特征不同,临床表现也各异。Wang等^[5]认为,胰腺外表现在AIP常见,1型AIP常伴有硬化性胆管炎、硬化性涎腺炎及腹膜后纤维化,2型AIP常伴有溃疡性结肠炎。此外,局限性AIP(focal autoimmune pancreatitis, f-AIP)^[6]或弥漫性AIP(diffuse autoimmune pancreatitis, d-AIP)^[7]的影像特征有时酷似胰腺癌(pancreatic cancer, PC)应予鉴别。AIP的发病机制尚未明确,IgG4可能至关重要,也可能与自身免疫功能紊乱而致对胰腺组织异常免疫应答有关^[8]。本文就AIP的最新研究进展概述如下。

1 AIP的发病机制

1.1 遗传易感性 Zen等^[9]认为,数个人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)及非HLA的单体型/基因型与IgG4-RD或类固醇治疗后的疾病复发相关。HLA-DRB1*0405、-DQB1*0401可能与AIP的遗传易感性相关^[10]。Ota等^[10]对43例AIP患者基因组的DNA分析显示,2个对AIP易感的关键HLA区域局限在Ⅱ类HLA的-DRB1*0405-DQB1*0401位点以及Ⅰ类HLA-E临近C3-2-11的ABCF1位点。Freitag等^[11]对转基因小鼠研究发现,由于HLA-DR*0405表达不能保护小鼠免于AIP,HLA-DR*0405等位基因似乎是AIP重要的风险因素。Park等^[12]发现,门冬氨酸(aspartic acid)在HLA-DQ β1的57位点替代非门冬氨酸(non-aspartic acid)似乎代表了AIP治疗后复发的关键遗传因素。细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4)

是T细胞免疫反应的关键负调节蛋白,CTLA4的单核苷多态性与多种自身免疫性疾病的易感性相关^[13]。Chang等^[13]研究显示,CTLA-4 49A多态性以及-318C/+49A/CT60G单体型与中国人群的AIP易感性显著相关。Umemura等^[14]证实,日本人群的AIP易感性也与CTLA-4的多态性以及血清sCTLA-4的水平显著相关。钾电压门控通道混合器相关亚家族成员3(potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3, KCNA3)基因可能参与调节效应和记忆T细胞介导的自身免疫性疾病^[15]。Ota等^[15]发现,KCNA3与AIP相关,提示KCNA3可能影响AIP的风险。此外,Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)为先天性免疫和获得性免疫的重要中介,TLR基因多态性与几种自身免疫性疾病相关,但是否与AIP有关尚不清楚^[16]。Umemura等^[16]应用等位基因频率分析发现,TLR基因多态性与AIP的易感性及复发均无关。

1.2 自身抗体 Smyk等^[17]认为,抗乳铁蛋白(anti-lactoferrin, anti-LF)抗体、抗碳酸酐酶Ⅱ、Ⅳ(anticarbonic anhydrase Ⅱ, Ⅳ, anti-CA-Ⅱ, Ⅳ)抗体、抗胰腺分泌型胰蛋白酶抑制因子(anti-pancreas secretory trypsin inhibitor, anti-PSTI)抗体、抗胰蛋白酶原(antitrypsinogens)抗体、抗α-淀粉酶(anti-amylase alpha)抗体、抗热休克蛋白10(anti-heat shock protein 10, anti-HSP10)抗体以及抗纤溶酶原结合蛋白(antiplasminogen-binding protein peptide, anti-PBP)抗体在AIP患者常呈阳性,但他们均非AIP的特异性抗体^[17]。此外,近40%的AIP患者类风湿因子(rheumatoid factor, RF)及抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)也呈阳性^[17]。Okazaki等^[18]推测,AIP的发病机制可能在于,天然调节性T细胞(natural occurring regulatory T cells, nTregs)的减少致使自身抗原(诸如LF、CA-Ⅱ、CA-Ⅳ、PSTI、α-淀粉酶、PBP)产生初始反应,进而引发Th1的促炎症性反应并释放干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-2和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)。继发于Th1初始反应的Th2反应促进疾病进一步恶化,并使IgG、IgG4增加以及自身抗体产生^[18]。IL-10和转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)可调节IgG4及纤维化,IgG1免疫复合物也可激活经典的补体途径^[18]。Löhr等^[8]通过基因组学、蛋白组学、免疫组织化学、免疫印记以及免疫分析等方法研究发现,AIP组包括编码免

疫球蛋白、趋化因子及其受体基因在内的272种基因上调, 而包括编码胰源性蛋白酶原3种异构体基因在内的86种基因下调. AIP组胰蛋白酶原及其他胰酶含量均显著下降, 胰蛋白酶阳性的腺泡细胞缺失, 血浆抗胰蛋白酶原(protease serine 1, PRSS1)、PRSS2以及抗PSTI(*SPINK1*基因的产物)自身抗体的滴度升高^[8]. 此研究表明, AIP的自身免疫过程可能涉及胰腺腺泡细胞及其分泌的各种酶^[8]. Frulloni等^[19]研究发现, 20例AIP患者中19例(95%)血清anti-PBP抗体阳性, 40例PC中4例(10%)anti-PBP抗体阳性, 而慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)及胰管内乳头状黏液瘤患者均为阴性. 提示anti-PBP抗体在AIP的发病机制中可能起重要作用.

1.3 分子模拟 分子模拟是指病原体的抗原表位与人体组织蛋白的表位相同或相似, 致使免疫系统在清除病原体的同时会攻击与之相似的自体成分, 导致自身免疫性疾病. AIP的发病机制可能涉及分子模拟^[9]. Haruta等^[20]每周给C57BL/6小鼠接种高温灭活的大肠杆菌共计8 wk, 接种结束后1 wk和12 mo分别处死小鼠获取样本, 1 wk及12 mo的胰腺外分泌腺组织可见明显的细胞浸润和纤维化, 接种结束后10 mo的胰管中心纤维化十分明显, 唾液腺管周围的炎症也可看到, 此外, 血清中拥有anti-CA抗体、anti-LF抗体及ANA, 接种灭活大肠杆菌触发C57BL/6小鼠产生了AIP样胰腺炎. 据此, Haruta等^[20]推测, 在疾病的初始阶段, 悄然浸润的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)和/或抗原(如灭活细菌)可能触发和上调先天免疫系统. 随后, 通过分子模拟机制, 此类PAMP的持续攻击或刺激致使针对靶抗原的宿主免疫应答上调, 这些缓慢渐进的步骤可能导致AIP的形成及相关的胰腺外损伤^[20]. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)被认为参与AIP的发病机制^[21]. 为此, Jesnowski等^[21]对AIP患者胰腺组织及胰液中*H. pylori*的DNA保守序列检测发现, 胰腺组织及胰液中均未检测出*H. pylori*的DNA序列, 提示*H. pylori*似乎不可能直接感染导致AIP, 而是通过分子模拟参与AIP的发病机制^[21]. Okazaki等^[22]认为, 在早期阶段, nTregs的减少诱发*H. pylori*分子模拟, Th1细胞释放促炎症细胞因子IFN- γ 、IL-1b、IL-2及TNF- α . 在慢性阶段, 通过记忆性Tregs的增加及Th2型免疫反应促进疾病进展, 补体系统的经典途径可能被IgG1免疫复合物激活^[22].

1.4 T细胞免疫异常 IgG4-RD可见大量的IgG4⁺浆细胞浸润, CD4⁺CD25⁺Tregs参与IgG4-RD的发病机制^[23]. Fukumura等^[23]分别采用IgG4/Foxp3(CD4⁺CD25⁺Tregs特殊标记物)免疫染色及双重荧光免疫组织化学方法对4例AIP患者研究发现, AIP的组织中富含IgG4⁺浆细胞及CD4⁺CD25⁺Tregs, 这可能与AIP的炎症活动有关. Kusuda等^[24]发现, AIP患者Foxp3⁺细胞与浸润性单核细胞(Foxp3/Mono)的比率显著高于对照组, 且Foxp3/Mono与IgG4/Mono呈正相关, 诱导性共刺激分子阳性的Tregs显著高于对照组, IL-10阳性的Tregs也显著高于对照组. 提示诱导性共刺激分子阳性的Tregs大量增加可能影响AIP患者的IgG4产生. Kubota等^[25]对32例AIP患者研究发现, 18例可见十二指肠乳头Foxp3⁺细胞显著浸润, 27例可见IgG4⁺浆细胞显著浸润, 提示检测十二指肠乳头的Foxp3⁺细胞数有助于AIP与PC的鉴别诊断. Li等^[26]研究显示, AIP患者的胰腺及胰腺外组织中可见大量的CD8⁺T淋巴细胞浸润, 表明这些细胞群在介导AIP的发病机制中可能更为重要. 此外, Schwaiger等^[27]对MRL/Mp小鼠的AIP模型研究发现, MRL/Mp小鼠的CTLA-4堵塞不仅可抑制Tregs功能而且可提高效应T细胞与后续的组织形态学损伤的应答, 提示AIP为T细胞驱动性疾病. Selezniuk等^[28]对AIP患者及小鼠模型研究发现, AIP患者淋巴毒素(lymphotoxin, LT) α 、 β 的mRNA水平以及趋化因子(CXCL13、CCL19、CCL21、CCL1、B细胞活化因子)的表达均显著高于对照组; 小鼠腺泡LT $\alpha\beta$ 的特异性超表达可诱导产生具有AIP各种特征的小鼠模型. 提示小鼠腺泡细胞的LT $\alpha\beta$ 超表达可导致AIP.

1.5 基因突变 Gao等^[29]研究发现, AIP患者的PRSS1基因存在2个新突变(p.81Leu \rightarrow Met和p.91Ala \rightarrow Ala). PRSS1_p.81Leu \rightarrow Met基因突变导致胰蛋白酶与苯基琼脂糖结合减少76.2%, 然而, AIP患者的胰蛋白酶/淀粉酶比率显著高于PC和其他胰腺炎患者, 并可见胆管内大量的淋巴细胞和浆细胞浸润以及肌成纤维细胞的增殖. 提示AIP可能与PRSS1基因突变有关^[29]. AIP患者在随访期间可能并发胃癌或结肠癌^[30]. Kamisawa等^[30]分别对12例AIP患者的十二指肠乳头(8例)、胃黏膜(5例)、结肠黏膜(3例)、胰腺组织(5例)、胆总管(5例)以及胆囊上皮(4例)的*K-ras*基因突变检测发现, 4例十二指肠乳头、2例胃黏膜、2例结肠黏膜、5例胰腺组织、4例胆总

■相关报道
Shimosegawa等报道了AIP的最新国际诊断共识, 对AIP的诊断、规范化治疗以及进一步研究有重要意义.

■创新盘点

本文详尽阐述了AIP的发病机制、临床特征、影像学特征、组织病理学特征以及AIP的最新国际诊断共识,重点阐述了AIP治疗取得的最新进展,为该领域的进一步研究提供了大量有价值的参考信息。

管及3例胆囊上皮可见显著的*K-ras*基因突变。而且,*K-ras*基因突变与组织的纤维化、IgG4⁺T淋巴细胞及Foxp3⁺细胞浸润相关。提示AIP可能有胃癌和结肠癌的风险。Kamisawa等^[31]的另一项研究显示,AIP患者的胰腺和胆道组织常有显著的*K-ras*基因突变。表明AIP可能是胰腺和胆道癌症的风险因素^[31]。AIP的临床及影像特征有时酷似PC,检测超声内镜引导下-细针穿刺(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)标本的*K-ras*基因突变、抑癌基因丢失及端粒酶活性等或许有助于AIP与PC的鉴别诊断^[32]。Khalid等^[32]对14例AIP和11例PC患者EUS-FNA标本的*K-ras*基因突变检测发现,AIP患者无一例*K-ras*基因突变,而11例PC患者中10例出现*K-ras*基因突变,提示EUS-FNA标本的*K-ras*基因突变检测有助于AIP与PC的鉴别^[32]。此外,DiMagno等^[33]认为,囊性纤维化转膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*)基因错位于胰管黏膜可能与AIP的发病机制有关。Patel等^[34]研究显示,AIP患者的*CFTR*基因突变可能引发坏死性胰腺炎。

2 流行病学

Kanno等^[35]对日本全国范围内AIP患者的流行病学调查资料显示,2007年AIP患者的预估数为2790例(95%CI: 2540-3040),总体患病率为2.2/100000人。新近被诊断为AIP的患者数预估为1120例(95%CI: 1000-1240),年均发病率为0.9/100000人。男女性别比例为3.7,平均年龄为63.0岁±11.4岁。546例获取临床信息的AIP患者中,87.6%患者的血清IgG4水平升高(≥135 mg/dL),83%的患者接受类固醇治疗。Li等^[36]对636例CP的回顾性分析显示,1990-2000年的CP数为215例,而AIP为0例;2001-2010年的CP数为421例,AIP为15例。AIP的发病率呈逐年上升趋势可能与人们对其认识加深有关。Shiokawa等^[37]发现,108例AIP患者中有15例(13.9%)在平均3.3年的随访期间发生18个癌症。癌症的标准化发病率(standardized incidence ratio, SIR)为2.7%(95%CI: 1.4%-3.9%),AIP患者在其诊断时的相对癌症风险为4.9%(95%CI: 1.7%-14.9%)。提示AIP患者有罹患各种癌症的风险。

3 临床特征

Zhang等^[38]发现,AIP患者可出现上腹痛、黄疸、尿黄、上腹不适、腹胀、厌食、消瘦、

虚弱、脐周痛及腰背痛等症状,1型AIP患者血清ALT、ALP、 γ -GT、AST水平显著低于2型AIP患者(分别 $P=0.044$ 、 0.025 、 0.013 、 0.072)。Kamisawa等^[4]研究显示,1型AIP阻塞性黄疸较2型常见(75% vs 47%, $P<0.001$),而腹痛(41% vs 68%, $P<0.001$)和急性胰腺炎(5% vs 34%, $P<0.001$)较2型少见。1型AIP弥漫性胰腺肿大(40% vs 25%, $P=0.037$)及血清IgG4升高(63% vs 23%, $P<0.001$)也较2型常见,但伴发溃疡性结肠炎少于2型(1% vs 16%, $P<0.001$)。Detlefsen等^[39]及Czakó等^[40]对欧洲AIP患者的研究与上述结论基本一致。AIP常累及其他器官,如胆管、胆囊、肾脏、腹膜后、甲状腺、唾液腺、肺、纵隔淋巴结以及前列腺等^[41,42]。

此外,米古利兹病(Mikulicz's disease, MD)是唾液腺、泪腺受累的自身免疫性疾病,以淋巴细胞浸润并取代腺泡为特征,部分AIP患者可伴发MD,使临床表现更为复杂^[43]。Kuruma等^[43]发现,AIP伴发MD者其复发率显著高于不伴发MD者。

4 影像学特征

Rehnitz等^[44]应用磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和CT对36例AIP患者的影像学特征评估显示,胰腺肿大3种类型:(1)局限型(focal type, F型)(28%);(2)弥漫型(diffuse type, D型)(11%);(3)混合型(combined type, C型)(56%)。67%的AIP主胰管扩张并伴有局限性或弥漫性狭窄。Tabata等^[45]根据胰腺肿大的部位将F型进一步分为头型(head type, H型)、体和/或尾型(body and/or tail type, B/T型),67例AIP中D型34例,H型19例,B/T型14例。Sun等^[6]研究显示,F型AIP常见5种影像结果:(1)腊肠型肿大;(2)延迟均匀增强;(3)低衰减胶囊样边缘;(4)不规则主胰管(main pancreatic duct, MPD)和/或胆总管(common bile duct, CBD)狭窄;(5)MPD上段扩张≤5 mm。提示CT和MRI联合分析有助于F型AIP与PC的准确鉴别^[6]。Zhang等^[46]对7例AIP患者行全身正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography/computed tomography, PET/CT)常规及胰腺延迟扫描发现,6例胰腺弥漫性肿大,1例节段性肿大,病变部位氟脱氧葡萄糖(fluorodeoxyglucose, FDG)条状摄取增高,最大标准化摄取值(maximum standardized uptake value, SUV_{max})平均 4.38 ± 0.90 ,延迟扫描后 SUV_{max} 增加至 5.31 ± 1.08 ,4例胰腺周围炎性渗出。7例均有胰腺外

病损, 4例肿大淋巴结伴FDG摄取增高; 4例合并涎腺肿大伴代谢增高; 4例合并胆管炎; 3例合并间质性肺炎; 5例前列腺出现倒“V”形FDG摄取增高。提示 ^{18}F -FDG PET/CT不仅能显示胰腺病灶, 还能发现胰腺外受累, 在AIP诊断及全身评估中发挥独特作用^[46]。但Nakatani等^[47]认为, PET/CT仅为诊断要素之一, AIP的诊断还应结合其他检查结果。Santhosh等^[48]报道1例经超声及血清学诊断为壶腹周围癌拟行Whipple手术后经PET/CT扫描疑诊AIP并经细胞学证实的AIP病例。此外, Imazu等^[49]采用时间-强度曲线(time intensity curve, TIC)软件及谐波造影增强超声内镜技术(contrast-enhanced harmonic-endoscopic ultrasound, CEH-EUS)研究发现, AIP与PC胰腺病灶的TIC模式显著不同, 以CEH-EUS制作TIC这种新的诊断程序有助于准确鉴别AIP与PC的胰腺病灶。

5 组织病理学特征

1型和2型AIP的组织病理学特征不完全相同^[2,50]。Detlefsen等^[51]认为, 二者除淋巴浆细胞浸润及席纹状纤维化特征相同外, 2型有其特殊的胰管改变, 即所谓的GELs, 但没有或罕有IgG4⁺浆细胞(<10个细胞/高倍视野)浸润^[51]。Zhang等^[52]发现, 上述特征不仅能区别AIP与其他类型CP, 而且也能准确鉴别1型和2型AIP。Deshpande等^[53]进一步证实, 1型是以胰腺为表现的IgG4-RD, 2型则仅局限于胰腺组织。EUS-FNA能否准确诊断AIP尚不清楚^[54]。Iwashita等^[54]研究显示, EUS-FNA获取的胰腺标本对于AIP的组织学分析安全可靠, 尽管其诊断率不高, 但可能有助于非典型特征的AIP患者免于外科手术。

6 诊断及鉴别诊断

Shimosegawa等^[2]起草的“AIP诊断标准的最新国际共识”将AIP分为LPSP和IDCP 2种类型, 二者均有胰管周围淋巴浆细胞浸润和席纹状纤维化的组织病理学特征, 其最主要区别在于LPSP不伴有GELs, 而IDCP伴有GELs, 并可致中小胰管或腺泡的破坏和闭塞。此外, LPSP还可见大量的IgG4⁺浆细胞浸润(>10个细胞/每高倍镜视野)及闭塞性淋巴浆细胞性小静脉炎等组织学特征; 而IDCP很少有IgG4⁺浆细胞浸润(<10个细胞/每高倍镜视野)。鉴于胰腺组织病理学结果难以获得, 基于LPSP和IDCP的临床特征, 又将AIP分为1型和2型, 分别与之对应。LPSP(1型)多见于亚洲

老年男性, 常有阻塞性黄疸, 为IgG4-RD的胰腺表现, 血清IgG4水平显著升高, 胰腺外器官可受累, 如IgG4相关硬化性胆管炎(immunoglobulin G4-related sclerosing cholangitis, IgG4-SC)、硬化性涎腺炎及腹膜后纤维化等, 对激素治疗反应敏感。而IDCP(2型)常见于欧美患者, 平均发病年龄比1型小10岁, 无性别倾向, 血清IgG4正常, 多并发炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 对激素有应答。尽管AIP诊断已取得国际共识, 但各区域AIP特征仍存差异。Kamisawa等^[4]证实, AIP存在地域差异, LPSP和IDCP不仅病理特征不同, 临床表现也各异。AIP有时酷似PC而致不必要的手术治疗^[55]。倘若AIP与PC共存于同一患者无疑使术前确诊更为困难^[56]。Chandrasegaram等^[56]及Yoneda等^[57]分别报道1例PC与AIP共存以及1例胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA)与AIP共存的病例。Matsumoto等^[58]认为, PET/CT无助于PDA诊断。Wu等^[59]发现, 血清 γ -球蛋白升高可作为AIP与PC的术前鉴别指标, 对于 γ -球蛋白升高者, 应进一步检测血清IgG或IgG4, 以避免AIP患者接受不必要的手术。

7 治疗

近期研究结果推荐, 0.5-0.6 mg/(kg·d)为初始治疗AIP的标准口服剂量, 但对于激素治疗无效或治疗当中再被诊断为PC的患者, 激素停用是否会增加术后肾上腺皮质功能低下风险尚不清楚, 也几乎缺乏激素冲击治疗AIP的相关报道^[60]。Tomiya等^[60]对11例激素冲击治疗及10例传统口服治疗的AIP回顾性分析发现, 前者初始静脉注射甲强龙500 mg/d, 每周3 d, 2 wk后改用口服强的松龙20 mg/d维持并逐渐减停; 后者初始口服强的松龙30-40 mg/d, 2 wk后同样改用口服强的松龙20 mg/d维持并逐渐减停。结果显示, 前者治疗后的GTP及ALT水平平均较后者显著改善。此外, 1例低位胆总管狭窄经传统口服激素治疗无效的AIP患者却在激素冲击治疗后得以缓解。提示激素冲击治疗对AIP是一种行之有效的初始治疗选择, 对低位胆总管狭窄程度的改善可能优于传统的口服激素治疗^[60]。Liu等^[61]对28例类固醇治疗的AIP及40例接受胰腺切除术、射频消融术、经皮肝穿胆汁引流术以及内镜胆汁引流术的AIP对比研究发现, 类固醇治疗AIP的缓解率(96.4%)显著高于无类固醇治疗者(75%)。同样, 前者的复发率(28.6%)也显著低于

■应用要点

本文详尽阐述了AIP近5年的最新研究进展, 提供了大量有价值的参考信息, 对该领域的基础与临床研究具有重要的指导意义。

■名词解释

谐波造影增强超声内镜技术(CEH-EUS):指EUS检查时,利用超声造影剂,增强病灶中的血流信号,连续实时和动态观察病灶组织中血流灌注状态,从而达到诊断目的。CEH-EUS是一项全新技术,可检测<2 cm的胰腺肿瘤,敏感性达95%。最近被用于AIP与PC的鉴别诊断。

后者(42.5%)^[61]。无论是否曾接受过类固醇治疗,对复发者重新类固醇治疗依然有效^[61]。但Miura等^[62]对13例行胰腺切除术的AIP长期随访发现,无确切证据表明AIP复发。腹部超声是检查胰腺形态学的最便捷方法,类固醇反应是AIP的关键特征^[63]。Matsubayashi等^[63]应用超声对33例AIP患者类固醇治疗前以及治疗后2 wk、1 mo的胰腺、胰腺外病变的可视化评估显示,86%及97%患者的胰腺病变分别于类固醇治疗2 wk及1 mo内明显回缩,其中,2 wk内胰腺病变的最大回缩厚度从28 mm减至22 mm($P<0.0001$),48%的胰腺周围肿大淋巴结、12%的主动脉壁厚也在2 wk内明显回缩($P=0.005$)。提示多数AIP的类固醇反应于2 wk内发生^[63]。此外,Matsubayashi等^[64]在另一项研究发现,部分AIP伴有脾肿大,尤其是弥漫性胰腺肿大及脾静脉狭窄者,类固醇可使其回缩或缓解。Kamisawa等^[1]认为,AIP类固醇治疗后复发常见,小剂量类固醇长期应用可减少复发,免疫抑制剂(硫唑嘌呤、6-巯基嘌呤和霉酚酸酯)及生物制剂(CD20抗体、利妥昔单抗)可能在维持缓解1型AIP的复发中发挥作用。Hart等^[65]研究证实,利妥昔单抗对免疫调节剂抵抗及类固醇不耐受的AIP患者有治疗效果。

8 结论

AIP的发病机制尚不清楚,可能涉及遗传易感性、免疫异常、分子模拟及基因突变等因素,虽然1型AIP也被称为IgG4-RD,但IgG4在AIP的致病作用仍不得而知。AIP被发现不过10余年的时间,但其临床、影像及组织病理学的研究已取得长足进步。AIP的最新国际诊断共识为AIP的进一步研究奠定了基础。AIP类固醇治疗后的复发以及最佳治疗方案的选择仍是目前急需解决的问题。

9 参考文献

- Kamisawa T, Chari ST, Lerch MM, Kim MH, Gress TM, Shimosegawa T. Recent advances in autoimmune pancreatitis: type 1 and type 2. *Gut* 2013; 62: 1373-1380 [PMID: 23749606 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-304224]
- Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, Kim MH, Klöppel G, Lerch MM, Löhr M, Notohara K, Okazaki K, Schneider A, Zhang L. International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatologists. *Pancreas* 2011; 40: 352-358 [PMID: 21412117 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182142fd2]
- 黄颖秋. IgG4相关硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2554-2561

- Kamisawa T, Chari ST, Giday SA, Kim MH, Chung JB, Lee KT, Werner J, Bergmann F, Lerch MM, Mayerle J, Pickartz T, Lohr M, Schneider A, Frulloni L, Webster GJ, Reddy DN, Liao WC, Wang HP, Okazaki K, Shimosegawa T, Kloeppel G, Go VL. Clinical profile of autoimmune pancreatitis and its histological subtypes: an international multicenter survey. *Pancreas* 2011; 40: 809-814 [PMID: 21747310 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182258a15]
- Wang Q, Zhang X, Zhang F. Autoimmune pancreatitis: current concepts. *Sci China Life Sci* 2013; 56: 246-253 [PMID: 23526391 DOI: 10.1007/s11427-013-4450-z]
- Sun GF, Zuo CJ, Shao CW, Wang JH, Zhang J. Focal autoimmune pancreatitis: radiological characteristics help to distinguish from pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3634-3641 [PMID: 23801866 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3634]
- Matsubayashi H, Sasaki K, Nagata K, Kanemoto H, Kiuchi R, Ono H. Pancreatic carcinoma mimicking diffuse-type autoimmune pancreatitis: important diagnostic role of pancreatic juice cytology using endoscopic naso-pancreatic drainage. *J Dig Dis* 2012; 13: 287-290 [PMID: 22500792 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00584.x]
- Löhr JM, Faissner R, Koczan D, Bewerunge P, Bassi C, Brors B, Eils R, Frulloni L, Funk A, Halangk W, Jesenofsky R, Kaderali L, Kleeff J, Krüger B, Lerch MM, Lösel R, Magnani M, Neumaier M, Nittka S, Sahin-Tóth M, Sängler J, Serafini S, Schnölzer M, Thierse HJ, Wandschneider S, Zamboni G, Klöppel G. Autoantibodies against the exocrine pancreas in autoimmune pancreatitis: gene and protein expression profiling and immunoassays identify pancreatic enzymes as a major target of the inflammatory process. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2060-2071 [PMID: 20407433 DOI: 10.1038/ajg.2010.141]
- Zen Y, Nakanuma Y. Pathogenesis of IgG4-related disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23: 114-118 [PMID: 21045701 DOI: 10.1097/BOR.0b013e3182383412f4a]
- Ota M, Katsuyama Y, Hamano H, Umemura T, Kimura A, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Fukushima H, Bahram S, Inoko H, Kawa S. Two critical genes (HLA-DRB1 and ABCF1) in the HLA region are associated with the susceptibility to autoimmune pancreatitis. *Immunogenetics* 2007; 59: 45-52 [PMID: 17119950 DOI: 10.1007/s00251-006-0178-2]
- Freitag TL, Cham C, Sung HH, Beilhack GF, Durinovic-Belló I, Patel SD, Bronson RT, Schuppan D, Sønderstrup G. Human risk allele HLA-DRB1*0405 predisposes class II transgenic Ab0 NOD mice to autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2010; 139: 281-291 [PMID: 20303356 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.038]
- Park do H, Kim MH, Oh HB, Kwon OJ, Choi YJ, Lee SS, Lee TY, Seo DW, Lee SK. Substitution of aspartic acid at position 57 of the DQbeta1 affects relapse of autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2008; 134: 440-446 [PMID: 18155707 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.023]
- Chang MC, Chang YT, Tien YW, Liang PC, Jan IS, Wei SC, Wong JM. T-cell regulatory gene CTLA-4 polymorphism/haplotype association with autoimmune pancreatitis. *Clin Chem* 2007; 53: 1700-1705 [PMID: 17712006 DOI: 10.1373/clinchem.2007.085951]
- Umemura T, Ota M, Hamano H, Katsuyama

- Y, Muraki T, Arakura N, Kawa S, Kiyosawa K. Association of autoimmune pancreatitis with cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphisms in Japanese patients. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 588-594 [PMID: 18341485 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01750.x]
- 15 Ota M, Ito T, Umemura T, Katsuyama Y, Yoshizawa K, Hamano H, Kawa S. Polymorphism in the KCNA3 gene is associated with susceptibility to autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Dis Markers* 2011; 31: 223-229 [PMID: 22045429 DOI: 10.3233/DMA-2011-0820]
- 16 Umemura T, Katsuyama Y, Hamano H, Kitahara K, Takayama M, Arakura N, Kawa S, Tanaka E, Ota M. Association analysis of Toll-like receptor 4 polymorphisms with autoimmune pancreatitis. *Hum Immunol* 2009; 70: 742-746 [PMID: 19500628 DOI: 10.1016/j.humimm.2009.05.009]
- 17 Smyk DS, Rigopoulou EI, Koutsoumpas AL, Kriesse S, Burroughs AK, Bogdanos DP. Autoantibodies in autoimmune pancreatitis. *Int J Rheumatol* 2012; 2012: 940831 [PMID: 22844291 DOI: 10.1155/2012/940831]
- 18 Okazaki K, Uchida K, Koyabu M, Miyoshi H, Takaoka M. Recent advances in the concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. *J Gastroenterol* 2011; 46: 277-288 [PMID: 21452084 DOI: 10.1007/s00535-011-0386-x]
- 19 Frulloni L, Lunardi C, Simone R, Dolcino M, Scattoni C, Falconi M, Benini L, Vantini I, Corrocher R, Puccetti A. Identification of a novel antibody associated with autoimmune pancreatitis. *N Engl J Med* 2009; 361: 2135-2142 [PMID: 19940298 DOI: 10.1056/NEJMoa0903068]
- 20 Haruta I, Yanagisawa N, Kawamura S, Furukawa T, Shimizu K, Kato H, Kobayashi M, Shiratori K, Yagi J. A mouse model of autoimmune pancreatitis with salivary gland involvement triggered by innate immunity via persistent exposure to avirulent bacteria. *Lab Invest* 2010; 90: 1757-1769 [PMID: 20733561 DOI: 10.1038/labinvest.2010.153]
- 21 Jesnowski R, Isaksson B, Möhrcke C, Bertsch C, Bulajic M, Schneider-Brachert W, Klöppel G, Lowenfels AB, Maisonneuve P, Lohr JM. *Helicobacter pylori* in autoimmune pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Pancreatol* 2010; 10: 462-466 [PMID: 20720447 DOI: 10.1159/000264677]
- 22 Okazaki K, Uchida K, Fukui T, Takaoka M, Nishio A. Autoimmune pancreatitis--a new evolving pancreatic disease? *Langenbecks Arch Surg* 2010; 395: 989-1000 [PMID: 20862490 DOI: 10.1007/s00423-010-0714-2]
- 23 Fukumura Y, Takase M, Mitani K, Suda K, Imahasan A, Nobukawa B, Ueda A, Abe H, Yao T. Amount of CD4+CD25+ regulatory T cells in autoimmune pancreatitis and pilonidal sinus. *Pancreas* 2012; 41: 910-915 [PMID: 22466163 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31823e3c66]
- 24 Kusuda T, Uchida K, Miyoshi H, Koyabu M, Sato S, Takaoka M, Shikata N, Uemura Y, Okazaki K. Involvement of inducible costimulator- and interleukin 10-positive regulatory T cells in the development of IgG4-related autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2011; 40: 1120-1130 [PMID: 21926547 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31821fc796]
- 25 Kubota K, Kato S, Watanabe S, Fujita K, Yoneda M, Takahashi H, Inamori M, Shimamura T, Kirikoshi H, Kobayashi N, Saito S, Hisatomi K, Matsuhashi N, Nakajima A. Usefulness of endoscopic biopsy using FOXP3+ Treg up-regulation in the duodenal papilla in the differential diagnosis between autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2011; 18: 414-421 [PMID: 21113630 DOI: 10.1007/s00534-010-0359-0]
- 26 Li SY, Huang XY, Chen YT, Liu Y, Zhao S. Autoimmune pancreatitis characterized by predominant CD8+ T lymphocyte infiltration. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4635-4639 [PMID: 22147972 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4635]
- 27 Schwaiger T, van den Brandt C, Fitzner B, Zaatreh S, Kraatz F, Dummer A, Nizze H, Evert M, Bröker BM, Brunner-Weinzierl MC, Wartmann T, Salem T, Lerch MM, Jaster R, Mayerle J. Autoimmune pancreatitis in MRL/Mp mice is a T cell-mediated disease responsive to cyclosporine A and rapamycin treatment. *Gut* 2013 Apr 5. [Epub ahead of print] [PMID: 23564336 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303635]
- 28 Seleznik GM, Reding T, Romrig F, Saito Y, Mildner A, Segerer S, Sun LK, Regenass S, Lech M, Anders HJ, McHugh D, Kumagi T, Hiasa Y, Lackner C, Haybaeck J, Angst E, Perren A, Balmer ML, Slack E, MacPherson A, Manz MG, Weber A, Browning JL, Arkan MC, Rülcke T, Aguzzi A, Prinz M, Graf R, Heikenwalder M. Lymphotoxin β receptor signaling promotes development of autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2012; 143: 1361-1374 [PMID: 22863765 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.112]
- 29 Gao F, Li YM, Hong GL, Xu ZF, Liu QC, He QL, Lin LQ, Weng SH. PRSS1_p.Leu81Met mutation results in autoimmune pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3332-3338 [PMID: 23745036 DOI: 10.3748/wjg.v19.i21.3332]
- 30 Kamisawa T, Horiguchi S, Hayashi Y, Yun X, Yamaguchi T, Tsuruta K, Sasaki T. K-ras mutation in the major duodenal papilla and gastric and colonic mucosa in patients with autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 771-778 [PMID: 20157749 DOI: 10.1007/s00535-010-0211-y]
- 31 Kamisawa T, Tsuruta K, Okamoto A, Horiguchi S, Hayashi Y, Yun X, Yamaguchi T, Sasaki T. Frequent and significant K-ras mutation in the pancreas, the bile duct, and the gallbladder in autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2009; 38: 890-895 [PMID: 19752775 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181b65a1c]
- 32 Khalid A, Dewitt J, Ohori NP, Chen JH, Fasanella KE, Sanders M, McGrath KM, Nikiforova M. EUS-FNA mutational analysis in differentiating autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatol* 2011; 11: 482-486 [PMID: 21997479 DOI: 10.1159/000331505]
- 33 DiMaggio MJ, DiMaggio EP. Chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 452-459 [PMID: 21844753 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328349e333]
- 34 Patel H, Levine J, Weinstein T. Combination of CFTR gene mutation and autoimmune pancreatitis presenting as necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2012; 41: 970-971 [PMID: 22781910 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31824993b5]
- 35 Kanno A, Nishimori I, Masamune A, Kikuta K, Hirota M, Kuriyama S, Tsuji I, Shimosegawa T. Nationwide epidemiological survey of autoimmune pancreatitis in Japan. *Pancreas* 2012; 41: 835-839 [PMID: 22466167 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182480c99]
- 36 Li JN, Lai YM, Qian JM, Guo T, Lü H, Tang XY.

同行评价

本文结合最新文献资料详细阐述了AIP的最新进展,内容丰富,科学性及可读性较好,对临床工作有指导意义。

- Trends in etiologies of chronic pancreatitis within 20 years: analysis of 636 cases. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 3556-3559 [PMID: 22340177]
- 37 Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K, Kawanami C, Mimura J, Yamashita Y, Asada M, Kikuyama M, Okabe Y, Inokuma T, Ohana M, Kokuryu H, Takeda K, Tsuji Y, Minami R, Sakuma Y, Kuriyama K, Ota Y, Tanabe W, Maruno T, Kurita A, Sawai Y, Uza N, Watanabe T, Haga H, Chiba T. Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 610-617 [PMID: 23318486 DOI: 10.1038/ajg.2012.465]
 - 38 Zhang X, Zhang X, Li W, Jiang L, Zhang X, Guo Y, Wang X. Clinical analysis of 36 cases of autoimmune pancreatitis in China. *PLoS One* 2012; 7: e44808 [PMID: 23028628 DOI: 10.1371/journal.pone.0044808]
 - 39 Detlefsen S, Zamboni G, Frulloni L, Feyerabend B, Braun F, Gerke O, Schlitter AM, Esposito I, Klöppel G. Clinical features and relapse rates after surgery in type 1 autoimmune pancreatitis differ from type 2: a study of 114 surgically treated European patients. *Pancreatology* 2012; 12: 276-283 [PMID: 22687385 DOI: 10.1016/j.pan.2012.03.055]
 - 40 Czako L, Gyökeres T, Topa L, Sahin P, Takács T, Vincze A, Dubravcsik Z, Szepes A, Pap A, Földesi I, Terzin V, Tiszlavicz L, Wittmann T. Autoimmune pancreatitis in Hungary: a multicenter nationwide study. *Pancreatology* 2011; 11: 261-267 [PMID: 21625197 DOI: 10.1159/000327092]
 - 41 Vlachou PA, Khalili K, Jang HJ, Fischer S, Hirschfield GM, Kim TK. IgG4-related sclerosing disease: autoimmune pancreatitis and extrapancreatic manifestations. *Radiographics* 2011; 31: 1379-1402 [PMID: 21918050 DOI: 10.1148/rg.315105735]
 - 42 Milosavljevic T, Kostic-Milosavljevic M, Jovanovic I, Krstic M. Extraintestinal manifestations of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis* 2012; 30: 220-223 [PMID: 22722443 DOI: 10.1159/000336708]
 - 43 Kuruma S, Kamisawa T, Tabata T, Hara S, Fujiwara T, Kuwata G, Egarashira H, Koizumi K, Setoguchi K, Fujiwara J, Arakawa T, Momma K, Mitsuhashi T, Sasaki T. Clinical Characteristics of Patients with Autoimmune Pancreatitis with or without Mikulicz's Disease and Mikulicz's Disease Alone. *Gut Liver* 2013; 7: 96-99 [PMID: 23422705 DOI: 10.5009/gnl.2013.7.1.96]
 - 44 Rehnitz C, Klauss M, Singer R, Ehehalt R, Werner J, Büchler MW, Kauczor HU, Grenacher L. Morphologic patterns of autoimmune pancreatitis in CT and MRI. *Pancreatology* 2011; 11: 240-251 [PMID: 21625195 DOI: 10.1159/000327708]
 - 45 Tabata T, Kamisawa T, Takuma K, Hara S, Kuruma S, Inaba Y. Differences between diffuse and focal autoimmune pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2099-2104 [PMID: 22563198 DOI: 10.3748/wjg.v18.i17.2099]
 - 46 Zhang J, Shao C, Wang J, Cheng C, Zuo C, Sun G, Cui B, Dong A, Liu Q, Kong L. Autoimmune pancreatitis: whole-body 18F-FDG PET/CT findings. *Abdom Imaging* 2013; 38: 543-549 [PMID: 23223832 DOI: 10.1007/s00261-012-9966-3]
 - 47 Nakatani K, Nakamoto Y, Togashi K. Utility of FDG PET/CT in IgG4-related systemic disease. *Clin Radiol* 2012; 67: 297-305 [PMID: 22119099 DOI: 10.1016/j.crad.2011.10.011]
 - 48 Santhosh S, Bhattacharya A, Harisankar CN, Kochhar R, Mittal BR. Role of 18F-FDG PET/CT in the Management of a Case of Autoimmune Pancreatitis With Extrapancreatic Manifestations. *Clin Nucl Med* 2013; 38: e423-e425 [PMID: 23510878 DOI: 10.1097/RLU.0b013e31827086b5]
 - 49 Imazu H, Kanazawa K, Mori N, Ikeda K, Kakutani H, Sumiyama K, Hino S, Ang TL, Omar S, Tajiri H. Novel quantitative perfusion analysis with contrast-enhanced harmonic EUS for differentiation of autoimmune pancreatitis from pancreatic carcinoma. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 853-860 [PMID: 22507131 DOI: 10.3109/00365521.2012.679686]
 - 50 Proctor RD, Rofe CJ, Bryant TJ, Hacking CN, Stedman B. Autoimmune pancreatitis: an illustrated guide to diagnosis. *Clin Radiol* 2013; 68: 422-432 [PMID: 23177083 DOI: 10.1016/j.crad.2012.08.016]
 - 51 Detlefsen S, Löhr JM, Drewes AM, Frøkjær JB, Klöppel G. Current concepts in the diagnosis and treatment of type 1 and type 2 autoimmune pancreatitis. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 2011; 5: 136-149 [PMID: 21453268]
 - 52 Zhang L, Chari S, Smyrk TC, Deshpande V, Klöppel G, Kojima M, Liu X, Longnecker DS, Mino-Kenudson M, Notohara K, Rodriguez-Justo M, Srivastava A, Zamboni G, Zen Y. Autoimmune pancreatitis (AIP) type 1 and type 2: an international consensus study on histopathologic diagnostic criteria. *Pancreas* 2011; 40: 1172-1179 [PMID: 21975436 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318233bec5]
 - 53 Deshpande V, Gupta R, Sainani N, Sahani DV, Virk R, Ferrone C, Khosroshahi A, Stone JH, Lauwers GY. Subclassification of autoimmune pancreatitis: a histologic classification with clinical significance. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 26-35 [PMID: 21164284 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182027717]
 - 54 Iwashita T, Yasuda I, Doi S, Ando N, Nakashima M, Adachi S, Hirose Y, Mukai T, Iwata K, Tomita E, Itoi T, Moriwaki H. Use of samples from endoscopic ultrasound-guided 19-gauge fine-needle aspiration in diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 316-322 [PMID: 22019795 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.09.032]
 - 55 Brauner E, Lachter J, Ben-Ishay O, Vlodavsky E, Kluger Y. Autoimmune pancreatitis misdiagnosed as a tumor of the head of the pancreas. *World J Gastrointest Surg* 2012; 4: 185-189 [PMID: 22905288 DOI: 10.4240/wjgs.v4.i7.185]
 - 56 Chandrasegaram MD, Chiam SC, Nguyen NQ, Ruszkiewicz A, Chung A, Neo EL, Chen JW, Worthley CS, Brooke-Smith ME. A case of pancreatic cancer in the setting of autoimmune pancreatitis with nondiagnostic serum markers. *Case Rep Surg* 2013; 2013: 809023 [PMID: 23781378 DOI: 10.1155/2013/809023]
 - 57 Yoneda M, Inada H, Kanayama K, Shiraishi T. A case of pancreatic ductal adenocarcinoma with marked infiltration with IgG4-positive cells. *J Cytol* 2013; 30: 46-48 [PMID: 23661941 DOI: 10.4103/0970-9371.107513]
 - 58 Matsumoto I, Shirakawa S, Shinzeki M, Asari S, Goto T, Ajiki T, Fukumoto T, Kitajima K, Ku Y. 18-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography does not aid in diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 712-718 [PMID: 23353642 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.12.033]
 - 59 Wu WC, Yao XZ, Jin da Y, Wang DS, Lou WH,

- Qin XY. Clinical strategies for differentiating autoimmune pancreatitis from pancreatic malignancy to avoid unnecessary surgical resection. *J Dig Dis* 2013; 14: 500-508 [PMID: 23692995 DOI: 10.1111/1751-2980.12075]
- 60 Tomiyama T, Uchida K, Matsushita M, Ikeura T, Fukui T, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Comparison of steroid pulse therapy and conventional oral steroid therapy as initial treatment for autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 696-704 [PMID: 21188426 DOI: 10.1007/s00535-010-0361-y]
- 61 Liu B, Li J, Yan LN, Sun HR, Liu T, Zhang ZX. Retrospective study of steroid therapy for patients with autoimmune pancreatitis in a Chinese population. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 569-574 [PMID: 23382638 DOI: 10.3748/wjg.v19.i4.569]
- 62 Miura F, Sano K, Amano H, Toyota N, Wada K, Kadowaki S, Shibuya M, Takada T, Soejima Y, Kon-do F. Long-term surgical outcomes of patients with type 1 autoimmune pancreatitis. *World J Surg* 2013; 37: 162-168 [PMID: 23010699 DOI: 10.1007/s00268-012-1803-x]
- 63 Matsubayashi H, Yoneyama M, Nanri K, Sugimoto S, Shinjo K, Kakushima N, Tanaka M, Ito S, Takao M, Ono H. Determination of steroid response by abdominal ultrasound in cases with autoimmune pancreatitis. *Dig Liver Dis* 2013 Jul 29. [Epub ahead of print] [PMID: 23906519 DOI: 10.1016/j.dld.2013.06.006]
- 64 Matsubayashi H, Uesaka K, Kanemoto H, Aramaki T, Nakaya Y, Kakushima N, Ono H. Reduction of splenic volume by steroid therapy in cases with autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2013; 48: 942-950 [PMID: 23076542 DOI: 10.1007/s00535-012-0692-y]
- 65 Hart PA, Topazian MD, Witzig TE, Clain JE, Gleeson FC, Klebig RR, Levy MJ, Pearson RK, Petersen BT, Smyrk TC, Sugumar A, Takahashi N, Vege SS, Chari ST. Treatment of relapsing autoimmune pancreatitis with immunomodulators and rituximab: the Mayo Clinic experience. *Gut* 2013; 62: 1607-1615 [PMID: 22936672 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302886]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

炎症性肠病生物治疗的进展

牛小娟, 许静涌, 宋京海

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 以慢性肠道炎症为主要特征. 其发病机制与机体的适应性和固有免疫系统发生的病理反应密切相关. 其发生发展是遗传易感性、外部环境、感染介质、肠道共生菌及免疫系统的功能障碍等多种因素相互作用所致. 如此复杂的机制为临床和实验研究提供了许多相应的治疗靶点.

牛小娟, 许静涌, 宋京海, 卫生部北京医院普通外科 北京市 100730

牛小娟, 博士研究生, 从事普通外科的相关研究.

北京市自然科学基金资助项目, No. 7122159

人事部回国启动基金资助项目, No. BJ-2007-31

作者贡献分布: 本文综述由牛小娟与许静涌完成; 宋京海负责审校.

通讯作者: 宋京海, 副教授, 副主任医师, 100730, 北京市东城区东单大华路1号, 卫生部北京医院普通外科.

jhaisong2003@163.com

收稿日期: 2013-07-26 修回日期: 2013-09-24

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Biological therapies for inflammatory bowel diseases

Xiao-Juan Niu, Jing-Yong Xu, Jing-Hai Song

Xiao-Juan Niu, Jing-Yong Xu, Jing-Hai Song, Department of General Surgery, Beijing Hospital of the Ministry of Health, Beijing 100730, China

Supported by: the Beijing Municipal Natural Science Foundation, No. 7122159; the Scientific Research Foundation of the State Human Resource Ministry for Returned Chinese Scholars, No. BJ-2007-31

Correspondence to: Jing-Hai Song, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Beijing Hospital of the Ministry of Health, 1 Dongdan Dahua Road, Dongcheng District, Beijing 100730, China. jhaisong2003@163.com

Received: 2013-07-26 Revised: 2013-09-24

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

The inflammatory bowel diseases (IBDs) are a group of diseases characterized by chronic intestinal inflammation. Complex mechanisms underlying intestinal inflammation in IBD make it difficult to cure this disease. Pathological response to IBD involves both the adaptive and innate immune systems. Advances in the understanding of the immune mechanisms have resulted in the development of multiple monoclonal antibodies and small molecules that represent an alternative to the use of current therapies for patients with refractory IBD. This article systematically reviews the mechanisms of action, efficacy and safety of different biological therapies and discusses future directions for the treatment of IBD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Biological therapy; Inflammatory bowel disease

Niu XJ, Xu JY, Song JH. Biological therapies for inflammatory bowel diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3514-3519 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3514>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以慢性肠道炎症为主要表现的一组症候群, 其复杂的免疫机制始终困扰着临床治疗. IBD病理反应通常与适应性和固有免疫系统的变化紧密相关. 随着对IBD免疫机制的深入了解, 多种生物制剂及小分子得以研发, 为难治性IBD的治疗提供了新思路和方法. 本文综述了不同生物治疗方法在IBD治疗中的作用机制、临床应用的有效性及其安全性, 探讨了IBD未来治疗可能的方向.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 生物治疗; 炎症性肠病

核心提示: 近年, 多种生物治疗方法应用于炎症性肠病(inflammatory bowel disease)的临床治疗, 但其仍处于探索阶段. 即便是抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α)药物这种目前看来最有效的治疗方法, 其疗效也差强人意. 在疾病的不同阶段选择正确的细胞因子靶向可能成为生物治疗成功的关键.

牛小娟, 许静涌, 宋京海. 炎症性肠病生物治疗的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3514-3519 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3514>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 以慢性肠道炎症为主要特征. 其发病机制与机体的适应性和固有免疫系统发生的病理反应密切相关. 其发生

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

发展是遗传易感性、外部环境、感染介质、肠道共生菌及免疫系统的功能障碍等多种因素相互作用所致^[1,2]。如此复杂的机制为临床和实验研究提供了许多相应的治疗靶点。我们回顾分析了近年不同生物治疗方法在IBD治疗中的作用机制、有效性和安全性,以为临床治疗提供新的可行思路。

1 针对适应性免疫系统的治疗

T细胞多态性在IBD的发病机制中占有重要地位,是目前研究的重点。以胃肠道斑片的透壁炎症为特征的CD与1型及17型辅助T细胞(Th1、Th17)的活化相关联,他们的活化有赖于抗原提呈细胞及巨噬细胞产生的白介素(interleukin, IL)-12、IL-18、IL-23及转化生长因子 β 的参与^[3-6]。而以结肠连续性的黏膜炎症为特征的UC则与IL-4、IL-5、IL-13介导的Th2免疫反应相关,导致了IL-13水平的增加^[7,8]。大多数具有治疗作用的新的生物分子是通过抑制促炎因子、增加抗炎因子、阻断T细胞抗原受体或共刺激分子等来减少病理性T细胞活化及其效应的。

1.1 阻断促炎因子

1.1.1 抗TNF- α : 抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)治疗是目前治疗IBD最主要的生物治疗方法。目前临床应用的抗TNF- α 的单克隆抗体如infliximab、adalimumab以及certolizumab pegol等药物可以明显改善患者的健康相关生活质量,但在初期的治疗有效的患者中,只有1/3在1年之后维持缓解,仍有许多需要接受其他相关治疗^[9,10]。新的药物如golimumab、darsalazine、HMPL-004及ozoralizumab(ATN-103)仍在各期临床试验研究中。而最新的抗TNF疫苗的针对中重度CD患者的II期临床试验显示,这种药物的耐受性好,没有严重的不良反应,诱导机体产生的抗体与临床缓解相关^[11]。

1.1.2 抗IL-12、IL-23: apilimod是IL-12和IL-23转录的小分子抑制剂。尽管初期的试验显示了apilimod mesylate在治疗活动期CD的临床作用及其良好的耐受性,但随后的随机对照试验并没有显示良好的疗效^[12,13]。ustekinumab和briakinumab都以IL-12和IL-23的p40亚单位为靶点。多项研究表明ustekinumab可能尤其适用于抗TNF- α 治疗失败的患者^[14,15]。SCH-900222以IL-23的特异性的p19亚单位为靶点,尚在研究的初始阶段。

1.1.3 抗IL-2: IL-2对T细胞的活化和增殖起到至关重要的作用。这使其成为一个非常具有吸引

力的靶点。IL-2R抑制剂包括basiliximab和daclizumab,这两者都是抗CD25(IL-2R α)的单克隆抗体。Creed等^[16]用basiliximab治疗激素抵抗的UC患者,90%在8 wk后获得缓解,70%在24 wk后获得完全缓解,且在basiliximab的治疗下激素敏感。随后用单剂量的basiliximab联合激素治疗激素抵抗的UC患者,结果在第24周65%的患者获得了临床缓解^[17]。两个试验均显示这种药物耐受性好,没有严重的不良反应。

1.1.4 抗 γ 干扰素: fontolizumab是唯一以 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)为靶点的生物制剂。Hommes等^[18]使用fontolizumab治疗CD患者,第56天反应率为69%,而安慰剂组为32%。Reinisch等^[19]发现,尽管在第29天,用fontolizumab治疗的CD患者与安慰剂组的反应率没有显著的区别,但是,29 d之后的时间点,接受fontolizumab治疗的患者得到显著的临床反应及改善的克罗恩病活动指数评分和CRP水平,提示fontolizumab的作用是逐渐的。其良好的试验数据有望为临床提供更有力的依据。

1.1.5 抗IL-6: 作为一个多效因子,IL-6导致了Th17分化,增加的IL-6及可溶性IL-6R的水平与IBD中增加的疾病严重程度相关^[20]。IL-6基因的多态性也与早发的CD相联系,持续的IL-6信号通路的激活在结肠癌的发展中起到了作用^[21-23]。以IL-6为靶点的生物制剂包括C326、sirukumab(CNT0136)、CDP6038、PF-04236921等。相比之下,tocilizumab是抗IL-6R的单克隆抗体。Ito等^[24]用tocilizumab治疗活动期CD患者12 wk,没有严重的不良反应,80%患者得到临床反应,而安慰剂组为31%。

1.1.6 抗IL-17: vidofludimus(4SC-101/SC12267),一个IL-17释放的小分子抑制剂。来自无对照非盲ENTRANCE研究显示vidofludimus是安全的,耐受性好,不良反应少。Herrlinger等^[25]用vidofludimus治疗激素依赖的缓解期CD或UC患者12 wk,53.9%维持了无激素下的缓解,34.6%维持了较低剂量激素下的缓解,11.5%没有反应。这些表明调节IBD中IL-17的功能的尝试值得更多的研究。

1.1.7 阻断信号传导通路: 除了抑制细胞因子及其受体,另一种减少IBD中炎症反应的手段是阻断由细胞因子介导的下游信号通路。作为与细胞因子受体作用的信号分子,Janus激酶(janus kinase, JAK)-JAK1、JAK2、JAK3,在细胞生长、存活、发育及免疫细胞的分化中起到了至

■ 研发前沿

随着对IBD免疫机制的深入了解,多种生物制剂及小分子得以研发,为难治性IBD的治疗提供了新思路和方法。

■相关报道

2008-01 FDA批准natalizumab用于诱导和维持中重度活动期CD患者的临床反应和缓解,但仅限于对传统CD治疗和抗TNF- α 反应不足及不能耐受的患者。该药说明书上有安全警告,并设置了一项针对CD患者的风险管理计划(包括强制的TOUCH处方程序),旨在告知开处方者、患者和输液中心药物的用法并将可能导致的PML及其他机会感染降到最低。

关重要的作用。JAK1和JAK2是广泛表达的,但是JAK3仅在造血细胞中存在,是信号通路的一部分,被IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21激活^[26]。tofacitinib(CP-690, 550)是一种新型的JAK3的小分子抑制剂,目前在II期临床试验中。药物作用的体外研究显示他干扰Th2及Th17细胞的分化,阻断IL-17及IL-22的产生,为有效地抑制IBD中存在的病理性免疫反应提供了可能性^[27]。

1.2 应用抗炎因子 治疗IBD的抗炎因子包括IL-10、IL-11及IFN- β 等,通过增加抗炎因子的数量,有助于维持IBD中炎症反应的平衡。研究显示IL-10基因的变异与UC的易感性明显相关^[28],基因敲除IL-10的小鼠自发地发生结肠炎^[29]。van Deventer等^[30]用IL-10治疗激素抵抗的CD患者,缓解率为50%,而安慰剂组是23%。但是,因为皮下注射给药的方式不能使炎症局部达到足够的药物浓度,所以不能防止术后的复发^[31]。目前应用基因修饰的能产生IL-10的乳酸乳球菌,可通过口服使IL-10直接到达肠黏膜。这项研究已经进入II期临床试验。

1.3 阻断T细胞激活及诱导T细胞凋亡 在生理性炎症的过程中,被病原体活化的T细胞数保持着增殖与凋亡的动态平衡。而在慢性病理性炎症中,T细胞增殖远远多于凋亡^[1,2]。因此,增加T细胞的凋亡可能是合理控制病理性炎症的手段之一。

1.3.1 visilizumab: visilizumab是抗T细胞抗原受体CD3链的单克隆抗体,阻断CD3导致T细胞凋亡。Plevy等^[32]使用visilizumab治疗严重激素难治性的UC患者,84%得到临床缓解。但过度的T细胞靶向控制会导致严重不良反应,近乎所有患者均发生了相关的不良反应,包括腹腔脓肿、房颤、巨细胞病毒感染及带状疱疹等。

1.3.2 abatacept: abatacept是2个细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)分子的细胞外功能区与人IgG1的Fc段结合而成的可溶性重组融合蛋白。CTLA-4可以干扰T细胞表达的CD28与抗原提呈细胞上的配体CD80和CD86相互作用,诱导T细胞无能及凋亡。其对中重度IBD治疗有待进一步研究。

2 加强固有免疫系统的治疗

CD发病的一种假说是减弱的急性炎症反应导致了渗透到肠壁的细菌的清除延迟^[33,34]。其免疫学基础即为先天性免疫系统的缺陷。刺激机体固

有免疫系统增加固有免疫细胞(如中性粒细胞、单核细胞等)或生成相应的抗菌蛋白质成分(如防御素等),可能对治疗IBD是有效的。

filgrastim和lenograstim是重组人型G-CSF。Dejaco等^[35]发现G-CSF与CD的黏膜愈合是相关的,愈合时间3-9 mo,且没有不良反应。Korzenik等^[36]用filgrastim治疗活动期CD患者,55%得到临床反应,25%获得缓解,唯一的值得注意的不良反应是轻微的骨痛。目前关于G-CSF的疗效还有待进一步证实。sargramostin是重组人型GM-CSF。I、II期临床试验显示sargramostin耐受性好,没有严重的不良反应,与安慰剂组相比,有较高的反应率和缓解率,可降低疾病严重程度、提高生活质量^[37-40]。

3 阻止内皮的白细胞浸润

一旦机体中的T细胞和中性粒细胞被激活,他们就会从体循环中迁移到小肠黏膜。白细胞浸润的过程是由白细胞上的整合素和趋化因子受体以及内皮细胞上的黏附分子所控制的,这些分子在炎症性肠病中是上调的^[41]。其中,整合素 $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha 4\beta 7$ 、 $\alpha 2\beta 2$,分别与黏附分子VCAM-1、MAdCAM-1、ICAM-1相互作用^[42,43]。

3.1 natalizumab natalizumab是以 $\alpha 4$ 为靶点的单克隆抗体,已经被批准用于CD的二线治疗^[44],是唯一可用于临床治疗CD的非以TNF- α 为靶点的生物制剂。10年前的第一个研究显示,接受natalizumab治疗的患者,39%获得缓解,而安慰剂组仅有8%^[45]。批准上市前最后一期试验显示,应用natalizumab的患者,12 wk持续反应率为48%,持续缓解率为26%,而安慰剂组是32%和16%^[46]。另外,最近的Meta分析得出结论,这种治疗在诱导CD缓解方面是优于安慰剂的^[47]。尽管natalizumab的成功,他仍然是二线治疗,仅用于难治性CD患者。因为其增加了机会性人多瘤JC病毒感染的风险,这种病毒会导致进行性多灶性白质脑病(progressive multifocal leukoencephalopathy, PML)。患者应用natalizumab治疗需要定期监测以保证与PML相关的风险最小化^[44]。

3.2 vedolizumab vedolizumab(MLN-02)是以 $\alpha 4\beta 7$ 为靶点的单克隆抗体。Feagan等^[48]用vedolizumab治疗活动期UC患者,缓解率为32%,而安慰剂组为14%,没有与vedolizumab相关的严重的不良反应发生。另外,一项实验性自身免疫性脑脊髓炎的恒河猴的研究显示,natalizumab在减少中枢系统炎症上有效,而vedolizumab则没有。这提示

vedolizumab不损伤中枢神经系统的免疫监视,因此可能比natalizumab在诱发IBD患者PML方面有相对低的风险^[49].

4 以细胞为基础的治疗

目前以细胞为基础的治疗目的是刺激或替代异常的免疫细胞. 治疗药物包括干细胞及自体免疫细胞, 如以间质/造血干细胞为基础的remestemcel-L(Prochymal)和multistem、采用了胎盘来源干细胞的PDA-001以及自体T细胞药物OvaSave. 这些药物均在各期的临床试验研究中.

已完成的小样本研究结果显示了以细胞为基础治疗的有效性. Burt等^[50]发现, 自体造血干细胞移植后的重度CD患者, 缓解率达到100%, 5年的随访显示保持缓解患者的比例为1年91%, 3年57%, 5年19%.

尽管以细胞为基础的治疗取得了成功, 但收集、扩增、移植这些细胞所需要的技术、消耗的时间及费用都成为推广该治疗方法的瓶颈. 目前仅作为其他治疗无效时的选择.

5 结论

近年, 多种生物治疗方法应用于IBD的临床治疗, 但其仍处于探索阶段. 即便是抗TNF- α 药物这种目前看来最有效的治疗方法, 其疗效也差强人意, 远期的预后并没有明显改善. 究其原因, 我们的转化医学研究仍需解决以下问题: (1)动物模型如何能够更好地再现人的发病过程. IBD的动物模型已经广泛地用于新药的研发. 但一些对实验性结肠炎有显著疗效的药物对人并不起作用; (2)在众多上调或下调的分子中, 如何挖掘真正有效的治疗靶点; (3)如何能更深入地研究患者所携带的易感基因与疾病发生发展的相关性, 从而可调控这些致病的易感基因. 相信随着对IBD发病机制的深入研究, 在疾病的不同阶段选择正确的细胞因子靶向可能成为生物治疗成功的关键.

6 参考文献

- 1 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640 [PMID: 17499605]
- 2 Engel MA, Neurath MF. New pathophysiological insights and modern treatment of IBD. *J Gastroenterol* 2010; 45: 571-583 [PMID: 20213337 DOI: 10.1007/s00535-010-0219-3]
- 3 Fuss JJ, Becker C, Yang Z, Groden C, Hornung RL, Heller F, Neurath MF, Strober W, Mannon PJ. Both IL-12p70 and IL-23 are synthesized during active Crohn's disease and are down-regulated by treat-

- ment with anti-IL-12 p40 monoclonal antibody. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 9-15 [PMID: 16374252]
- 4 Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 821-852 [PMID: 17201677]
- 5 Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 382-388 [PMID: 16670527]
- 6 MacDonald TT, Monteleone I, Fantini MC, Monteleone G. Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine. *Gastroenterology* 2011; 140: 1768-1775 [PMID: 21530743 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.047]
- 7 Fuss JJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, Yang Z, Exley M, Kitani A, Blumberg RS, Mannon P, Strober W. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 1490-1497 [PMID: 15146247]
- 8 Monteleone I, Vavassori P, Biancone L, Monteleone G, Pallone F. Immunoregulation in the gut: success and failures in human disease. *Gut* 2002; 50 Suppl 3: III60-III64 [PMID: 11953335]
- 9 Peyrin-Biroulet L, Lémann M. Review article: remission rates achievable by current therapies for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 870-879 [PMID: 21323689 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04599.x]
- 10 Bouguen G, Peyrin-Biroulet L. Surgery for adult Crohn's disease: what is the actual risk? *Gut* 2011; 60: 1178-1181 [PMID: 21610273 DOI: 10.1136/gut.2010.234617]
- 11 Neovacs. Press Release: Final results of the Phase II study in Crohn's. 2012. Available form: URL: <http://www.neovacs.fr/en/press/news>
- 12 Burakoff R, Barish CF, Riff D, Pruitt R, Chey WY, Farraye FA, Shafran I, Katz S, Krone CL, Vander Vliet M, Stevens C, Sherman ML, Jacobson E, Bledday R. A phase 1/2A trial of STA 5326, an oral interleukin-12/23 inhibitor, in patients with active moderate to severe Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 558-565 [PMID: 16804392]
- 13 Sands BE, Jacobson EW, Sylwestrowicz T, Younes Z, Dryden G, Fedorak R, Greenbloom S. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the oral interleukin-12/23 inhibitor apilimod mesylate for treatment of active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1209-1218 [PMID: 19918967 DOI: 10.1002/ibd.21159]
- 14 Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN, Scherl E, Fleisher MR, Katz S, Johans J, Blank M, Rutgeerts P. A randomized trial of Ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2008; 135: 1130-1141 [PMID: 18706417 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.07.014]
- 15 Toedter GP, Blank M, Lang Y, Chen D, Sandborn WJ, de Villiers WJ. Relationship of C-reactive protein with clinical response after therapy with ustekinumab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2768-2773 [PMID: 19672253 DOI: 10.1038/ajg.2009.454]
- 16 Creed TJ, Norman MR, Probert CS, Harvey RF, Shaw IS, Smithson J, Anderson J, Moorghen M, Gupta J, Shepherd NA, Dayan CM, Hearing SD. Basiliximab (anti-CD25) in combination with steroids may be an effective new treatment for steroid-

■创新盘点

本文从针对适应性免疫系统的治疗、加强固有免疫系统的治疗、阻止内皮的白细胞浸润以及以细胞为基础的治疗4个方面分述了不同作用机制的生物治疗方法的有效性及其安全性.

■应用要点

本文综述了不同生物治疗方法在IBD治疗中的作用机制、临床应用的有效性 & 安全性, 探讨了IBD未来治疗可能的方向。

- resistant ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 65-75 [PMID: 12848627]
- 17 Creed TJ, Probert CS, Norman MN, Moorghen M, Shepherd NA, Hearing SD, Dayan CM. Basiliximab for the treatment of steroid-resistant ulcerative colitis: further experience in moderate and severe disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1435-1442 [PMID: 16669958]
- 18 Hommes DW, Mikhajlova TL, Stoinov S, Stimac D, Vucelic B, Lonovics J, Zákuciová M, D'Haens G, Van Assche G, Ba S, Lee S, Pearce T. Fontolizumab, a humanised anti-interferon gamma antibody, demonstrates safety and clinical activity in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2006; 55: 1131-1137 [PMID: 16507585]
- 19 Reinisch W, de Villiers W, Bene L, Simon L, Rácz I, Katz S, Altorjay I, Feagan B, Riff D, Bernstein CN, Hommes D, Rutgeerts P, Cortot A, Gaspari M, Cheng M, Pearce T, Sands BE. Fontolizumab in moderate to severe Crohn's disease: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 233-242 [PMID: 19637334 DOI: 10.1002/ibd.21038]
- 20 Mudter J, Neurath MF. IL-6 signaling in inflammatory bowel disease: pathophysiological role and clinical relevance. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1016-1023 [PMID: 17476678]
- 21 Foran E, Garrity-Park MM, Mureau C, Newell J, Smyrk TC, Limburg PJ, Egan LJ. Upregulation of DNA methyltransferase-mediated gene silencing, anchorage-independent growth, and migration of colon cancer cells by interleukin-6. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 471-481 [PMID: 20354000 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0496]
- 22 Li Y, de Haar C, Chen M, Deuring J, Gerrits MM, Smits R, Xia B, Kuipers EJ, van der Woude CJ. Disease-related expression of the IL6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis. *Gut* 2010; 59: 227-235 [PMID: 19926618 DOI: 10.1136/gut.2009.184176]
- 23 Matsumoto S, Hara T, Mitsuyama K, Yamamoto M, Tsuruta O, Sata M, Scheller J, Rose-John S, Kado S, Takada T. Essential roles of IL-6 trans-signaling in colonic epithelial cells, induced by the IL-6/soluble-IL-6 receptor derived from lamina propria macrophages, on the development of colitis-associated premalignant cancer in a murine model. *J Immunol* 2010; 184: 1543-1551 [PMID: 20042582 DOI: 10.4049/jimmunol.0801217]
- 24 Ito H, Takazoe M, Fukuda Y, Hibi T, Kusugami K, Andoh A, Matsumoto T, Yamamura T, Azuma J, Nishimoto N, Yoshizaki K, Shimoyama T, Kishimoto T. A pilot randomized trial of a human anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 989-996; discussion 947 [PMID: 15057738]
- 25 Herrlinger KR, Diculescu M, Fellermann K, Hartmann H, Howaldt S, Nikolov R, Petrov A, Reindl W, Otte JM, Stoyanov S, Strauch U, Sturm A, Voiosu R, Ammendola A, Dietrich B, Hentsch B, Stange EF. Efficacy, safety and tolerability of vidofludimus in patients with inflammatory bowel disease: the ENTRANCE study. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 636-643 [PMID: 23078909 DOI: 10.1016/j.crohns.2012.09.016]
- 26 Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev* 2009; 228: 273-287 [PMID: 19290934 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00754.x]
- 27 Ghoreschi K, Jesson MI, Li X, Lee JL, Ghosh S, Alsup JW, Warner JD, Tanaka M, Steward-Tharp SM, Gadina M, Thomas CJ, Minnerly JC, Storer CE, LaBranche TP, Radi ZA, Dowty ME, Head RD, Meyer DM, Kishore N, O'Shea JJ. Modulation of innate and adaptive immune responses by tofacitinib (CP-690,550). *J Immunol* 2011; 186: 4234-4243 [PMID: 21383241 DOI: 10.4049/jimmunol.1003668]
- 28 Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, Domingues FS, Albrecht M, Nothnagel M, Ellinghaus D, Sina C, Onnie CM, Weersma RK, Stokkers PC, Wijmenga C, Gazouli M, Strachan D, McArdle WL, Vermeire S, Rutgeerts P, Rosenstiel P, Krawczak M, Vatn MH, Mathew CG, Schreiber S. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet* 2008; 40: 1319-1323 [PMID: 18836448 DOI: 10.1038/ng.221]
- 29 Berg DJ, Davidson N, Kühn R, Müller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, Rennick D. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses. *J Clin Invest* 1996; 98: 1010-1020 [PMID: 8770874]
- 30 van Deventer SJ, Elson CO, Fedorak RN. Multiple doses of intravenous interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology* 1997; 113: 383-389 [PMID: 9247454]
- 31 Colombel JF, Rutgeerts P, Malchow H, Jacyna M, Nielsen OH, Rask-Madsen J, Van Deventer S, Ferguson A, Desreumaux P, Forbes A, Geboes K, Melani L, Cohard M. Interleukin 10 (Tenovil) in the prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease. *Gut* 2001; 49: 42-46 [PMID: 11413109]
- 32 Plevy S, Salzberg B, Van Assche G, Regueiro M, Hommes D, Sandborn W, Hanauer S, Targan S, Mayer L, Mahadevan U, Frankel M, Lowder J. A phase I study of visilizumab, a humanized anti-CD3 monoclonal antibody, in severe steroid-refractory ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007; 133: 1414-1422 [PMID: 17920064]
- 33 Marks DJ, Harbord MW, MacAllister R, Rahman FZ, Young J, Al-Lazikani B, Lees W, Novelli M, Bloom S, Segal AW. Defective acute inflammation in Crohn's disease: a clinical investigation. *Lancet* 2006; 367: 668-678 [PMID: 16503465]
- 34 Smith AM, Rahman FZ, Hayee B, Graham SJ, Marks DJ, Sewell GW, Palmer CD, Wilde J, Foxwell BM, Gloger IS, Sweeting T, Marsh M, Walker AP, Bloom SL, Segal AW. Disordered macrophage cytokine secretion underlies impaired acute inflammation and bacterial clearance in Crohn's disease. *J Exp Med* 2009; 206: 1883-1897 [PMID: 19652016 DOI: 10.1084/jem.20091233]
- 35 Dejaco C, Lichtenberger C, Miehsler W, Oberhuber G, Herbst F, Vogelsang H, Gangl A, Reinisch W. An open-label pilot study of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of severe endoscopic postoperative recurrence in Crohn's disease. *Digestion* 2003; 68: 63-70 [PMID: 14581762]
- 36 Korzenik JR, Dieckgraefe BK. An open-labelled study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 391-400 [PMID: 15709989]

- 37 Dieckgraefe BK, Korzenik JR. Treatment of active Crohn's disease with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Lancet* 2002; 360: 1478-1480 [PMID: 12433518]
- 38 Korzenik JR, Dieckgraefe BK, Valentine JF, Hausman DF, Gilbert MJ. Sargramostim for active Crohn's disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 2193-2201 [PMID: 15917384]
- 39 Valentine JF, Fedorak RN, Feagan B, Fredlund P, Schmitt R, Ni P, Humphries TJ. Steroid-sparing properties of sargramostim in patients with corticosteroid-dependent Crohn's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Gut* 2009; 58: 1354-1362 [PMID: 19505878 DOI: 10.1136/gut.2008.165738]
- 40 Kelsen JR, Rosh J, Heyman M, Winter HS, Ferry G, Cohen S, Mamula P, Baldassano RN. Phase I trial of sargramostim in pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1203-1208 [PMID: 20052780 DOI: 10.1002/ibd.21204]
- 41 Danese S. Nonimmune cells in inflammatory bowel disease: from victim to villain. *Trends Immunol* 2008; 29: 555-564 [PMID: 18838297 DOI: 10.1016/j.it.2008.07.009]
- 42 Bevilacqua MP. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 767-804 [PMID: 8476577]
- 43 Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25 [PMID: 1555235]
- 44 Food and Drug Administration. Approval of Natalizumab for Use in Crohn's disease. 2008. Available form: URL: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_ApprovalHistory#apphist
- 45 Gordon FH, Lai CW, Hamilton MI, Allison MC, Srivastava ED, Fouweather MG, Donoghue S, Greenlees C, Subhani J, Amlot PL, Pounder RE. A randomized placebo-controlled trial of a humanized monoclonal antibody to alpha4 integrin in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2001; 121: 268-274 [PMID: 11487536]
- 46 Targan SR, Feagan BG, Fedorak RN, Lashner BA, Panaccione R, Present DH, Spehlmann ME, Rutgeerts PJ, Tulassay Z, Volfova M, Wolf DC, Hernandez C, Bornstein J, Sandborn WJ. Natalizumab for the treatment of active Crohn's disease: results of the ENCORE Trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 1672-1683 [PMID: 17484865]
- 47 Ford AC, Sandborn WJ, Khan KJ, Hanauer SB, Talley NJ, Moayyedi P. Efficacy of biological therapies in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 644-659, quiz 660 [PMID: 21407183 DOI: 10.1038/ajg.2011.73]
- 48 Feagan BG, Greenberg GR, Wild G, Fedorak RN, Paré P, McDonald JW, Dubé R, Cohen A, Steinhart AH, Landau S, Aguzzi RA, Fox IH, Vandervoort MK. Treatment of ulcerative colitis with a humanized antibody to the alpha4beta7 integrin. *N Engl J Med* 2005; 352: 2499-2507 [PMID: 15958805]
- 49 Fedyk E, Csizmadia V, Shyu W, Yang L, Wyant T, Kadambi V. The gastrointestinal-selective biologic vedolizumab does not impair immune surveillance of the central nervous system in non-human primates: O-015. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: S4-S5 [DOI: 10.1002/ibd.21581]
- 50 Burt RK, Craig RM, Milanetti F, Quigley K, Gozdzia P, Bucha J, Testori A, Halverson A, Verda L, de Villiers WJ, Jovanovic B, Oyama Y. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe anti-TNF refractory Crohn disease: long-term follow-up. *Blood* 2010; 116: 6123-6132 [PMID: 20837778 DOI: 10.1182/blood-2010-06-292391]

■同行评价

本文总结了不同生物治疗方法在IBD治疗中的作用机制、临床应用的有效性及其安全性,探讨了IBD未来治疗可能的方向,这对临床治疗及科研指导都有一定的意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



重视腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值

翟荣林, 龙跃平, 王国斌

■背景资料

目前在急腹症的早期诊治中存在着一定的误诊误治率, 临床上这方面血的教训和案例不胜枚举。选择一个快速准确的方法, 尽早明确病因并确定治疗方案, 在急腹症早期诊治中至关重要。

翟荣林, 龙跃平, 王国斌, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科 湖北省武汉市 430022

翟荣林, 主要从事胃肠道肿瘤的临床与基础研究。

作者贡献分布: 本文综述由翟荣林与龙跃平完成; 王国斌审校。

通讯作者: 翟荣林, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市江汉区汉口解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科. 53623543@qq.com

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-04

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Clinical value of CT in early diagnosis and treatment of acute abdomen

Rong-Lin Zhai, Yue-Ping Long, Guo-Bin Wang

Rong-Lin Zhai, Yue-Ping Long, Guo-Bin Wang, Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Rong-Lin Zhai, Attending Physician, Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Hankou Jiefang Road, Jiangnan District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 53623543@qq.com

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-04

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

It is critical to select a fast and accurate method for the early diagnosis and treatment of acute abdomen. CT displays important application value in the early diagnosis and treatment of acute abdomen because of its convenient and intuitive features, advantages in terms of sensitivity and specificity compared with other methods, and the relatively low economic cost. In this paper, we summarize the application value of abdominal CT in the early diagnosis and treatment of acute abdomen by analyzing the characteristics of acute abdomen, comparing CT examination with other methods, and presenting several specific cases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: CT; Acute abdomen; Differential diagnosis

Zhai RL, Long YP, Wang GB. Clinical value of CT in early diagnosis and treatment of acute abdomen. Shijie Huaren

Xiaohua Zazhi 2013; 21(32): 3520-3525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3520.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3520>

摘要

选择一个快速、准确的诊断方法, 尽早明确急腹症的病因并确定治疗方案在急腹症早期诊治中至关重要。CT扫描由于其快捷方便和直观的特性, 在敏感性和特异性方面的比较性优势以及相对不高的经济花费成本, 决定了其在急腹症的早期诊治中具有重要应用价值。本文通过归纳总结腹部外科急腹症的特点, CT自身特点及其在急腹症早期诊治中的比较性优势, 并结合具体临床病例分析, 对腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: CT; 急腹症; 鉴别诊断

核心提示: CT扫描有利于降低急腹症的早期误诊误治率和死亡率, 提高急腹症患者的诊断准确率和生存率, 适合在大型医疗机构和基层医院广泛开展。腹部CT平扫完全可以作为急腹症患者的常规首选检查项目。

翟荣林, 龙跃平, 王国斌。重视腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值。世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3520-3525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3520.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3520>

0 引言

急腹症是以急性腹痛为突出表现需要紧急处理的腹部疾病, 其发病凶险, 病因复杂, 临床表现多样, 常涉及多学科^[1]。有些患者在很短时间内病情变化很大, 如处理不及时或处理方法有误, 则后果严重, 甚至危及生命。因此对于临床外科医生来说, 尽早明确急腹症的病因, 判断患者有无急诊手术指征并确定治疗方案^[2], 是重中之重的事情。选择一个快速、准确的诊断方法, 赢得有效治疗时间至关重要。本文就腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值作一综述。

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院

1 腹部外科急腹症的特点

腹部的脏器从形态学角度, 大致可以分为空腔脏器, 实质性脏器和淋巴血管组织。常见的空腔脏器相关的急腹症包括外伤或溃疡病等引起的急性胃肠道穿孔、消化系出血、急性阑尾炎、急性肠梗阻、炎症性假性肠梗阻、胆石症、急性梗阻性化脓性胆管炎、急性胃肠炎、肠扭转、肠痉挛、肠胀气、肠麻痹、缺血性结肠炎、吻合口瘘、胆瘘、腹内疝^[3]、输尿管膀胱结石或穿孔^[4]等。实质性脏器相关的急腹症包括外伤等导致的肝脾胰肾破裂出血、肝癌破裂出血、急性胰腺炎、肾结石、宫外孕、卵巢囊肿蒂扭转、黄体破裂等。淋巴血管组织相关的急腹症则包括腹主动脉瘤、腹主动脉夹层、肠系膜上动静脉血栓形成、小儿肠系膜淋巴结炎、淋巴瘤等。此外少见的有结核性腹膜炎、腹型紫癜、腹型癫痫、膈疝等。

急腹症的病因虽有数十种, 但大致可分为内科急腹症和外科急腹症, 处理方式各异。内科急腹症多为功能性疾病, 如胃肠痉挛、急性胃肠炎、肠麻痹、炎症性肠梗阻、结核性腹膜炎、腹型紫癜、腹型癫痫以及其他一些内科系统疾病表现出来的急性腹部症状等, 患者虽腹痛腹胀剧烈但却不需要急诊手术, 多数患者通过保守治疗可以痊愈。外科急腹症多为器质性疾病^[5], 绝大多数需要手术干预, 但处理上也有轻重缓急之分。部分外科急腹症如急性胰腺炎、泌尿系结石、肿瘤性肠道梗阻、胆囊胆管结石, 虽具备手术指征, 但却不需要马上急诊手术, 完全可以在完善的术前评估和充分的术前准备后再行限期手术, 但是对于诸如空腔脏器穿孔、实质性脏器破裂出血、坏疽性胆囊炎、急性梗阻性化脓性胆管炎、绞窄性肠梗阻、腹内嵌顿疝等急腹症, 则必须分秒必争, 及时地手术干预, 否则后果严重。因此选择一个快速、准确的诊断方法, 尽早明确急腹症的病因, 判断患者有无急诊手术指征并确定治疗方案则至关重要。

2 CT自身特点及其在急腹症早期诊治中的比较性优势

B超分辨力有限, 易受肠腔内气体干扰。B超检查中为了提高阳性发现率, 常需要加压完成, 疼痛敏感患者和儿童常不能很好配合完成。B超检查缺乏客观的影像学证据, 受检查者本身的水平和经验影响较大^[6,7], 所以腹部的大部分区域难以超声检查来准确评价^[8-12]。B超费用虽低于CT, 但CT

因为其较高的诊断准确率及其对治疗方案的影响, 从而使患者的误诊误治率和整个住院费用较B超明显降低, 因而总体性价比优于B超^[13,14]。普通站立位腹部X线平片检查是多种组织结构和器官的重叠图像、软组织分辨率低, 一般只能根据急腹症所引起的间接征象作出大致判断, 对间接征象的判断受医师经验、X线检查敏感性、间接征象程度影响较大, 因而很容易导致漏诊或误诊。对于不能站立的下肢骨折患者, 急危重患者和昏迷患者, 站立位腹部平片检查更是受到局限。磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和CT相比, 在分辨率、经济花费以及检查效率等方面均不如后者表现优秀, MRI检查耗时较长, 这显然不适合作为急腹症患者的首选检查手段。

CT扫描对于腹部实质性脏器评估具有绝对的优势。对于腹部空腔脏器而言, 内镜检查固然重要, 但是对于疑似空腔脏器相关的急腹症患者行内镜检查显然是不恰当的。相比较B超、平片或内镜等, CT的优势在于可以迅速准确的发现或者排除诸如胃肠道穿孔、绞窄性肠梗阻、胆囊坏疽、腹内嵌顿疝、肠扭转肠套叠等亟须急诊手术干预的空腔脏器相关的急腹症^[15-21]。对于一个需要在短时间内明确病因决定治疗方案的急腹症患者而言这已经足够。CT对腹主动脉瘤或夹层、肠系膜上动静脉血栓形成和小儿肠系膜淋巴结炎等相关急腹症^[22,23]也要良好的提示。现有研究提示CT在急腹症病因诊断中的准确率高达95%以上^[24], CT诊断急性阑尾炎的灵敏度高达100%^[25]。64层螺旋CT拥有超快速大范围的高分辨率的容积扫描能力, 这在急诊工作中尤为重要。可以在一次屏气的情况下进行从头到脚的扫描, 显著缩短了扫描时间, 并减少了因呼吸或胃肠蠕动产生的运动性伪影, 尽可能缩短了患者在影像科的滞留时间, 这对及时处理急症和挽救患者生命具有重要意义。容积扫描没有跳层现象和数据遗漏, 减少了病变漏诊机会。

3 典型病例点评分析

病例1: 男, 60岁, 神经外科, 因颅内血管瘤破裂行栓塞术后2 wk, 近2 d出现腹痛腹胀, 保守治疗无效, 请普外科会诊。体检提示右下腹麦氏点压痛反跳痛明显, 余无特殊。患者血象增高, 腹部未行任何特殊影像学检查。会诊初步诊断为急性阑尾炎, 建议急诊手术, 同时建议术前行急诊腹部CT平扫, 进一步明确腹部病变。会诊30 min后CT结果提示: 胆囊明显肿大, 胆囊壁周围广泛

■ 研发前沿

本文对腹部CT平扫在急腹症早期诊治的应用价值进行综述和探讨。

■相关报道

急腹症辅助检查有腹部B超、站立位腹部平片、核磁共振等。CT平扫与其他辅助检查相比,具有独特的比较性优势。

渗出伴脂肪间隙模糊,余未见明显特殊异常。术中遂临时决定采用右侧探查切口进腹。术中探查发现胆囊坏疽并被大网膜包裹,阑尾未见明显异常,遂行胆囊切除术+阑尾切除术,术后病检证实胆囊坏疽,阑尾炎性改变。病例点评:该患者的腹部体格检查及实验室检查资料,均指向急性阑尾炎的初步诊断,但实为坏疽性胆囊炎,考虑为胆囊坏疽穿孔后,胆汁经右侧结肠旁沟流向右髂窝及盆腔,刺激腹膜,从而出现转移性右下腹疼痛和右下腹麦氏点压痛反跳痛体征。胆囊因为已经坏疽穿孔并被大网膜包裹,相反右上腹症状消失体征阴性。如果术前腹部评估资料不完善,单凭急性阑尾炎的疑似诊断指向而贸然进行手术,很可能导致术中措手不及甚至遗漏病情。

病例2:男,20岁,“臀部刀刺伤半小时”急诊入院,刀刺伤导致臀部血管破裂大出血,血管外科已行清创止血术,现请普外科术中会诊,排除腹部情况。普外科会诊人员查看患者后发现,患者处于全麻肌松状态,腹平软,全腹壁未见外伤,腹腔诊断性穿刺未抽出明显内容物,术前未进行任何腹部影像学检查,遂建议先行急诊腹部CT平扫,明确腹部情况。CT结果提示腹腔积血积液,膈下可见游离气体。考虑为腹部空腔脏器穿孔,遂行剖腹探查术,术中发现乙状结肠破裂穿孔,结合病史,应为刀刺伤刺穿盆壁所致,遂行乙状结肠造口术。病例点评:患者处于全麻肌肉松弛状态,无法主诉,且对腹部体格检查也不能应答,体检也没有发现明显腹壁伤口清创止血术前也没有进行任何影像学检查,故贸然剖腹探查缺乏循证医学证据。B超检查固然能够发现腹腔有无积液,但对于发现腹腔游离气体显然无能为力,单凭腹部少量积液就行探查手术,缺乏足够说服力。CT对此则具有明显的优势,既可以发现膈下游离气体,又能明确直观地显示腹腔积液部位及数量,从而为临床医生的最终决策提供重要依据。

病例3:“转移性右下腹疼痛1 d”患者,血象增高,体格检查提示右下腹压痛反跳痛阳性,诊断为急性阑尾炎行急诊阑尾切除术,麦氏切口进腹,术中发现阑尾稍增粗,盆腔少量黄色积液,行阑尾切除并置管引流,术后患者腹痛腹胀没有明显缓解且有加重趋势,腹腔引流管每日引流出淡黄色胆汁样液体约100 mL。术后3 d行急诊腹部CT扫描提示胆囊周围脂肪间隙模糊并网膜包裹,肝下间隙积液,腹腔肠管胀气扩张。

再次手术探查,发现胆囊穿孔,行胆囊切除,冲洗腹腔并置管引流,患者术后好转出院。病例点评:患者术前影像学评估资料欠缺,术中当发现阑尾没有明显异常的时候,没有及时的进一步追溯病因,这当然可能和手术切口选择有关,如麦氏切口不易暴露等。但更重要的是和主刀医生的临机应变判断有关。如果术前能够做一个简单腹部CT平扫,那么对于手术切口的选择以及可能的病变部位探查就会更加有的放矢。该患者补救措施尚及时,术后发现腹痛腹胀没有明显缓解,腹腔引流管引流物性状异常的时候及时行腹部CT扫描,发现问题后及时再次手术,从而挽救了患者的生命,避免了胆汁性腹膜炎进一步加重可能导致的悲剧。

病例4:男,55岁,车祸伤者,全身多处骨折行左下肢骨折内固定术后第3天,诉腹痛腹胀,请普外科会诊。查体:腹部稍膨隆,脐周压痛阳性,反跳痛无。腹腔穿刺未抽出明显内容物。辅助检查:患者刚入院时已行全身CT扫描,腹部CT提示腹腔少量积液,无明显游离气体。术后因为腹胀已行两次腹部B超检查,均提示腹腔肠管扩张积气,腹腔及肠间可见少量积液。会诊后建议暂禁饮食,行急诊腹部CT平扫。结果提示膈下游离气体,腹腔积液,肠间积液,考虑为骨折合并空腔脏器穿孔。遂行急诊剖腹探查,术中探查发现距回盲部约50 cm处回肠破裂穿孔,遂拖出破裂小肠行造瘘术,术后患者腹痛腹胀情况明显好转。病例点评:多发伤患者诉腹痛腹胀要高度警惕腹腔脏器损伤。该患者发病入院时已行急诊腹部CT平扫,腹部情况尚可,仅提示少量积液,未见明显游离气体,这种少量积液也可能是腹腔脏器或腹壁挫伤引起,此时行剖腹探查术缺乏足够依据。该患者骨折内固定术后因腹胀已行多次腹部B超,均提示腹腔及肠间少量积液。由于创伤、休克、应激、麻醉等因素同样可以导致术后肠麻痹,故此时同样缺乏足够剖腹探查依据。腹部再次CT的结果则明显支持空腔脏器穿孔的判断,为普外科会诊医生最终的手术探查决策提供重要的参考依据。患者刚入院时的腹部CT平扫之所以没有发现膈下游离气体,可能和外伤时间短有关。

4 结论

急腹症早期诊治中的首要任务是在短时间内迅速判断患者是否具备急诊手术指征。对于一个急腹症患者而言,治疗方案的决策至关重要。对

于一名急腹症患者而言是决定保守治疗还是手术干预,是急诊手术还是择期手术,有时候直接关系到患者的疗效和预后。因为种种原因,目前在急腹症的早期诊治中存在着一定的误诊误治率,临床上这方面血的教训和案例不胜枚举^[26-33]。如初诊为急性阑尾炎的患者行阑尾切除术,术后半年患者腹痛没有明显缓解,进一步检查却发现患者为升结肠癌晚期;术前仅凭腹部B超报告的胆囊结石结果匆忙手术,术中却发现患者合并了急性胰腺炎,需要急诊手术的患者没有及时手术,或者应该保守治疗的患者却做了急诊手术,这些都是我们应该极力去避免的临床医疗事故。因而选择一个快速、准确的诊断方法,尽早鉴别诊断急腹症的病因并确定治疗方案就显得至关重要。

急腹症诊治的关键在于一个“急”字,辅助检查的快捷准确性是衡量不同检测手段优劣的最重要参考指标。急腹症最常见的病因之一为急性阑尾炎,目前对B超和CT在包括急性阑尾炎在内的急腹症早期诊治中的应用价值还存在着争议,不同作者的研究结果和倾向性也不同^[34-44]。CT由于其快捷准确直观的影像学特性,在急腹症病因的诊断与鉴别诊断方面具有独特的优势^[45-48]。Hernanz-Schulman^[49]从检查的准确率、性价比、方便快捷性和是否有创等方面对两者的诊断价值进行了比较,结果提示CT在诊断急性阑尾炎的准确率、总体性价比方面明显优于B超。CT对于评估非创伤性急腹症是功能性还是器质性,具有重要指导意义^[50]。对于创伤性急腹症而言,CT检查结果可以初步评估有无合并腹腔脏器损伤及损伤程度,为治疗方案的决策提供了客观依据^[51-53]。在美国等一些西方国家,疑诊为急腹症的患者常规行CT检查。腹部CT扫描的阳性发现固然重要,阴性发现同样重要,因为他初步排除了一些需要紧急手术的疾病,缩小了诊断的范围,为从容制定下一步的检查和治疗方案赢得了时间,为密切观察病情演变提供了可行性和循证医学证据。

CT作为一种辅助检查手段,本身也具有一定的局限性,如CT不能床旁完成,对医患均存在射线暴露,CT对拟近期受孕或已经怀孕的患者是绝对禁忌。CT发报告医生的水平,其关注的重点以及专业所限等因素,有时候会导致CT书面报告与实际CT片结果不一致。有时候CT结果与临床表现症状也不一定相符合。因此,一名优秀的外科医生应该养成亲自阅片的习惯,并具备

一定的阅片水平,不能简单依赖报告。外科医生在急腹症的早期诊治中除了参考CT结果外,还需要仔细的体格检查和详细的阅读病史和实验室检查资料,依据“一元论”原则做出准确的判断。

总之,CT扫描由于其快捷方便和直观的特性,在敏感性和特异性方面的比较性优势,以及相对不高的经济花费成本,决定了其在急腹症的早期诊治中具有重要应用价值,有利于降低急腹症的早期误诊误治率和死亡率,提高急腹症患者的诊断准确率和生存率,适合在大型医疗机构和基层医院广泛开展。腹部CT平扫完全可以作为急腹症患者的常规首选检查项目。

5 参考文献

- 1 Bennett GL, Harvey WB, Slywotzky CM, Birnbaum BA. CT of the acute abdomen: gynecologic etiologies. *Abdom Imaging* 2003; 28: 416-432 [PMID: 12719915]
- 2 Dye T. The acute abdomen: a surgeon's approach to diagnosis and treatment. *Clin Tech Small Anim Pract* 2003; 18: 53-65 [PMID: 12772870]
- 3 Romano S, De Lutio E, Lombardo P, Gatta G, Romano L. Acute abdomen due to internal hernia through the foramen of Winslow: CT diagnosis. *Radiol Med* 2003; 105: 511-513 [PMID: 12949462]
- 4 Gomes CA, de Figueiredo AA, Soares Júnior C, Bastos Netto JM, Tassi FR. [Acute abdomen: spontaneous bladder rupture as an important differential diagnosis]. *Rev Col Bras Cir* 2009; 36: 364-365 [PMID: 20076931]
- 5 王渭滨, 司海流, 张勇, 郭晓军, 郑政, 李旭虎. 老年急腹症外科治疗97例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 708-711
- 6 Eiberg JP, Grantcharov TP, Eriksen JR, Boel T, Buhl C, Jensen D, Pedersen JF, Schulze S. Ultrasound of the acute abdomen performed by surgeons in training. *Minerva Chir* 2008; 63: 17-22 [PMID: 18212723]
- 7 Williams RJ, Windsor AC, Rosin RD, Mann DV, Crofton M. Ultrasound scanning of the acute abdomen by surgeons in training. *Ann R Coll Surg Engl* 1994; 76: 228-233 [PMID: 8074382]
- 8 Lindelius A, Pettersson H, Adami J, Törngren S, Sonden A. Patient factors influencing the effect of surgeon-performed ultrasound on the acute abdomen. *Crit Ultrasound J* 2010; 2: 97-105 [PMID: 21290005]
- 9 Meuwly JY, Felley C, Vuilleumier H, Schnyder P, Hewig U. [Ultrasound examination of non-traumatic acute abdomen]. *Ultraschall Med* 2002; 23: 13-21 [PMID: 11842367]
- 10 季秀玲, 庞秀英, 王丽群, 贾淑芬. 老年急腹症49例超声诊断及误诊分析. *中国误诊学杂志* 2011; 11: 6174-6174
- 11 郭永慧. 150例常见妇科急腹症超声检查误诊分析探讨. *中国实用医药* 2012; 7: 51-52
- 12 张敏, 刘志亚, 曾燕红. 急腹症超声诊断中漏误诊的原因分析. *浙江创伤外科* 2011; 16: 67-68
- 13 Peña BM, Taylor GA, Fishman SJ, Mandl KD. Costs and effectiveness of ultrasonography and limited computed tomography for diagnosing appendicitis

■创新盘点

本文通过归纳总结腹部外科急腹症的特点,CT自身特点及其在急腹症早期诊治中的比较性优势,并结合具体临床病例分析,对腹部CT平扫在急腹症早期诊治中的应用价值作一综述。

■应用要点

腹部CT有利于降低急腹症的早期误诊误治率和死亡率,提高急腹症患者的诊断准确率和生存率,腹部CT平扫完全可以作为急腹症患者的常规首选检查项目。

- in children. *Pediatrics* 2000; 106: 672-676 [PMID: 11015507]
- 14 Maturen KE, Wasnik AP, Kamaya A, Dillman JR, Kaza RK, Pandya A, Maheshwary RK. Ultrasound imaging of bowel pathology: technique and keys to diagnosis in the acute abdomen. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 197: W1067-W1075 [PMID: 22109321 DOI: 10.2214/AJR.11.6594]
- 15 Weir-McCall J, Shaw A, Arya A, Knight A, Howlett DC. The use of pre-operative computed tomography in the assessment of the acute abdomen. *Ann R Coll Surg Engl* 2012; 94: 102-107 [PMID: 22391377 DOI: 10.1308/003588412X13171221501663]
- 16 Nguyen LK, Wong DD, Fatovich DM, Yeung JM, Persaud J, Wood CJ, de Vos D, Mendelson RM. Low-dose computed tomography versus plain abdominal radiography in the investigation of an acute abdomen. *ANZ J Surg* 2012; 82: 36-41 [PMID: 22507493 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2010.05632.x]
- 17 Johnson GL, Johnson PT, Fishman EK. CT evaluation of the acute abdomen: bowel pathology spectrum of disease. *Crit Rev Diagn Imaging* 1996; 37: 163-190 [PMID: 8872409]
- 18 Nokes S, Montanez J. CT scans are helpful in acute abdomen cases. Ileocolic intussusception. *J Ark Med Soc* 2000; 97: 125-126 [PMID: 12876813]
- 19 Bretagnol F, Gomez MA, Pautrat K, Scotto B, de Calan L. [Primary epiploic appendicitis: an etiology of acute abdomen revealed by CT scan]. *Ann Chir* 2003; 128: 333-335 [PMID: 12878072]
- 20 Urban BA, Fishman EK. Targeted helical CT of the acute abdomen: appendicitis, diverticulitis, and small bowel obstruction. *Semin Ultrasound CT MR* 2000; 21: 20-39 [PMID: 10688065]
- 21 Katz DS, Yam B, Hines JJ, Mazzie JP, Lane MJ, Abbas MA. Uncommon and unusual gastrointestinal causes of the acute abdomen: computed tomographic diagnosis. *Semin Ultrasound CT MR* 2008; 29: 386-398 [PMID: 18853844]
- 22 Wong YY, Yeung TK, Chu WC. Atypical presentation of lymphangiomyomatosis as acute abdomen: CT diagnosis. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 284-285 [PMID: 12818883]
- 23 Urban BA, Fishman EK. Tailored helical CT evaluation of acute abdomen. *Radiographics* 2000; 20: 725-749 [PMID: 10835125]
- 24 Taourel P, Baron MP, Pradel J, Fabre JM, Seneterre E, Bruel JM. Acute abdomen of unknown origin: impact of CT on diagnosis and management. *Gastrointest Radiol* 1992; 17: 287-291 [PMID: 1426841]
- 25 Poortman P, Oostvogel HJ, Bosma E, Lohle PN, Cuesta MA, de Lange-de Klerk ES, Hamming JF. Improving diagnosis of acute appendicitis: results of a diagnostic pathway with standard use of ultrasonography followed by selective use of CT. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 434-441 [PMID: 19318006 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.003]
- 26 刘勇. 基层医院急性阑尾炎误诊分析. 检验医学与临床 2012; 9: 255-256
- 27 洪顺发, 黄自在, 叶得龙, 谢中金, 刘铁毅. 阑尾炎误诊分析. 中国医药科学 2012; 2: 170-171
- 28 刘红. 肠道门诊急腹症50例误诊分析. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 1553-1554
- 29 赵广花, 王宝生. 妇科急腹症误诊为急性阑尾炎9例临床分析. 医学理论与实践 2012; 25: 2646-2647
- 30 孙中国. 基层医院急腹症误诊为阑尾炎的临床分析. 基础医学论坛 2013; 17: 851-852
- 31 谭志永. 急诊外科急腹症42例临床误诊原因分析及对策. 医学理论与实践 2013; 26: 1128-1130
- 32 谭耘. 急腹症186例急诊预检误诊的常见因素及对策. 中国误诊学杂志 2011; 11: 1640-1641
- 33 赵云霞, 林翔海. 外科急腹症误诊为妇科急腹症临床分析. 临床误诊误治 2012; 25: 3-4
- 34 da Freitas RS, Ascenço AS, Maluf Junior I, Nasser I, Balbinot P, Lopes MA, Forte AJ, Sadowski JA. Acute abdomen after abdominoplasty: Differential diagnosis. *Aesthetic Plast Surg* 2013 Mar 26. [Epub ahead of print] [PMID: 23529759]
- 35 Chhetri RK, Shrestha ML. A comparative study of pre-operative with operative diagnosis in acute abdomen. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2005; 3: 107-110 [PMID: 16415604]
- 36 O'Leary DP, Redmond HP, Andrews EJ. Low-dose abdominal CT for diagnosing appendicitis. *N Engl J Med* 2012; 367: 478; author reply 478-479 [PMID: 22853027 DOI: 10.1056/NEJMc1206326#SA2]
- 37 Lopez PP, Cohn SM. CT scanning in the management of acute appendicitis. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 567; author reply 567 [PMID: 20868979 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.06.112]
- 38 Al-Ajerami Y. Sensitivity and specificity of ultrasound in the diagnosis of acute appendicitis. *East Mediterr Health J* 2012; 18: 66-69 [PMID: 22360013]
- 39 Sezer TO, Gulece B, Zalluhoglu N, Gorgun M, Dogan S. Diagnostic value of ultrasonography in appendicitis. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 633-636 [PMID: 23356200]
- 40 Bretagnol F, Zappa M, Panis Y. [Ultrasound and CT imaging in the diagnosis of acute appendicitis]. *J Chir (Paris)* 2009; 146: 8-11 [PMID: 19846096 DOI: 10.1016/j.jchir.2009.08.002]
- 41 Vauth C, Englert H, Fischer T, Kulp W, Greiner W, Willich SN, Stroeve B, Graf von der Schulenburg JM. Sonographic diagnosis of "acute abdomen" in children and adults. *GMS Health Technol Assess* 2005; 1: Doc08 [PMID: 21289929]
- 42 Harvey C, Hart JL, Lloyd CR. Ultrasound in the acute abdomen. *Br J Hosp Med (Lond)* 2008; 69: M116-M119 [PMID: 18783095]
- 43 Bleck JS, Terkamp C, Manns M, Gebel M. [Ultrasound of acute abdomen]. *Internist (Berl)* 2003; 44: 542-546, 548-552, 554-556 [PMID: 12966784]
- 44 Meuwly JY, Vial Y, Vuilleumier H, Schnyder P, Hewig U. [Ultrasound of non traumatic acute abdomen: extra-digestive causes]. *Ultraschall Med* 2002; 23: 301-310 [PMID: 12400020]
- 45 Priola AM, Priola SM, Volpicelli G, Giraudo MT, Martino V, Fava C, Veltri A. Accuracy of 64-row multidetector CT in the diagnosis of surgically treated acute abdomen. *Clin Imaging* 2013; 37: 902-907 [PMID: 23764231 DOI: 10.1016/j.clinimag.2013.02.016]
- 46 Uslu Tutar N, Özgül E, Ögüz D, Cakir B, Tarhan NC, Coşkun M. An uncommon cause of acute abdomen—epiploic appendagitis: CT findings. *Turk J Gastroenterol* 2007; 18: 107-110 [PMID: 17602359]
- 47 Malone AJ. Unenhanced CT in the evaluation of the acute abdomen: the community hospital experience. *Semin Ultrasound CT MR* 1999; 20: 68-76 [PMID: 10222515]
- 48 宋富珍, 程英升. 多层螺旋CT成像技术在急腹症中的应用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2332-2336
- 49 Hernanz-Schulman M. CT and US in the diagnosis of appendicitis: an argument for CT. *Radiology*

- 2010; 255: 3-7 [PMID: 20308436 DOI: 10.1148/radiol.09091211]
- 50 Barajas RF, Yeh BM, Webb EM, Westphalen AC, Poder L, Coakley FV. Spectrum of CT findings in patients with atrial fibrillation and nontraumatic acute abdomen. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 485-492 [PMID: 19620447 DOI: 10.2214/AJR.08.1119]
- 51 Siewert B, Raptopoulos V, Mueller MF, Rosen MP, Steer M. Impact of CT on diagnosis and management of acute abdomen in patients initially treated without surgery. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168: 173-178 [PMID: 8976942]
- 52 Salem TA, Molloy RG, O'Dwyer PJ. Prospective study on the role of the CT scan in patients with an acute abdomen. *Colorectal Dis* 2005; 7: 460-466 [PMID: 16108882]
- 53 Abujudeh HH, Kaewlai R, McMahon PM, Binder W, Novelline RA, Gazelle GS, Thrall JH. Abdominopelvic CT increases diagnostic certainty and guides management decisions: a prospective investigation of 584 patients in a large academic medical center. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 238-243 [PMID: 21257870 DOI: 10.2214/AJR.10.4467]

■同行评价

本文有一定的学术价值, 论据充分, 对临床实践有很重要的意义, 对基层医院有一定的指导作用。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

HMGB1/TLR信号通路在*H. pylori*感染中作用的研究进展

王福财, 谢勇

■背景资料

早期研究认为高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)作为一种警报素在“危险信号”出现时可释放至胞外参与多种炎症与免疫反应。而其胞外受体-Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染致病关系密切。因此HMGB1/TLR信号通路在*H. pylori*感染中可能发挥重要作用。

王福财, 谢勇, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化系疾病研究所, 江西省消化病研究重点实验室 江西省南昌市 330006

王福财, 讲师, 主要从事HMGB1在*H. pylori*感染中作用及机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960144

江西省青年科学基金资助项目, No. 20132BAB215017

作者贡献分布: 本文综述由王福财完成; 谢勇负责审校。

通讯作者: 谢勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。xieyong_med@163.com

电话: 0791-88692507

收稿日期: 2013-08-27 修回日期: 2013-09-23

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-18

Role of HMGB1/TLR signaling pathway in *Helicobacter pylori* infection

Fu-Cai Wang, Yong Xie

Fu-Cai Wang, Yong Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960144; Jiangxi Provincial Youth Science Foundation, No. 20132BAB215017

Correspondence to: Yong Xie, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. xieyong_med@163.com

Received: 2013-08-27 Revised: 2013-09-23

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-18

Abstract

High mobility group box 1 protein (HMGB1), as a mediator of late inflammation, provides a wide therapeutic window. Extracellular HMGB1 as an endogenous injury-related molecule promotes the development of inflammation and damage by binding to its receptors. Studies have discovered that lipopolysaccharide and vacuolating cytotoxin A (VacA) of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) are strong stimulating factors of HMGB1 expression, and its extracellular receptors Toll-like receptors (TLRs) are closely associated with *H. pylori* infection and pathogenicity. Therefore, the HMGB1/TLR signaling pathway may play

an important role in inflammatory response and immune abnormalities caused by *H. pylori* infection. This article will discuss the role of the HMGB1/TLR signaling pathway in *H. pylori* infection.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: High mobility group box 1 protein; *Helicobacter pylori*; Toll-like receptor; Inflammatory response; Immune abnormality

Wang FC, Xie Y. Role of HMGB1/TLR signaling pathway in *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3526-3531 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3526>

摘要

高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)作为晚期炎症介质, 具有较宽泛的治疗窗口期。胞外HMGB1作为内源性损伤相关分子被其受体识别而促进其炎症和损伤的发生、发展。研究发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染后其脂多糖成分及细胞空泡毒素(vacuolating cytotoxin, VacA)可强烈刺激HMGB1的表达, 而其胞外受体-Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)与*H. pylori*感染及致病关系密切。因此, HMGB1/TLR信号通路在*H. pylori*感染引起的炎症反应与免疫异常中可能发挥重要作用。现主要对其研究进展予以综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 高迁移率族蛋白B1; 幽门螺杆菌; Toll样受体; 炎症反应; 免疫异常

核心提示: 近年来研究显示幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)所含的如脂多糖(lipopolysaccharide)成分及VacA蛋白可强烈刺激高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)表达, 推测HMGB1/Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)信号通路在*H. pylori*感染导致的炎症反应与免疫异常中发挥重要作用, 因此干预

■同行评议者
李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

HMGB1/TLR信号通路蛋白表达有望用于防治*H. pylori*感染相关的疾病.

王福财, 谢勇. HMGB1/TLR信号通路在*H. pylori*感染中作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3526-3531
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3526>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是人类常见的致病菌之一, 在人群中的感染率高达40%-90%; *H. pylori*感染者不仅可引起上胃肠道疾病[如慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、胃黏膜相关淋巴组织(gastric mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤等]^[1], 还可引发许多胃肠道以外的疾病^[2]. *H. pylori*的高感染率以及严重的致病性使之成为研究热点, 但其发病机制尚未完全阐明, 已明确炎症反应与免疫异常是*H. pylori*感染相关疾病的主要发病机制之一. 因此, 如何控制*H. pylori*感染并防止其导致的胃肠道内外疾病的发生发展成为*H. pylori*感染防治的关键问题.

近年来研究发现, 作为一种晚期炎症介质-高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1), 相对于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素(interleukin, IL)-1 α 、IL-6等经典炎症介质具有较宽泛的治疗窗口期. HMGB1是一种典型的“危险因子”, 正常情况下表达于胞核和胞浆, 仅在“危险信号”出现时释放至胞外发挥作用. 胞外的HMGB1不仅可直接充当炎性细胞因子参与天然免疫效应, 也可作为一种警报素激活抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC), 从而启动、增强特异性免疫应答^[3], 参与多种炎症与免疫反应. 本文重点阐述HMGB1及其Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)信号通路在*H. pylori*感染引起的炎症反应与免疫异常中的作用.

1 *H. pylori*感染致病的重要机制-炎症反应与免疫异常

*H. pylori*是感染人类最常见的细菌之一, 全世界超过50%的人有*H. pylori*感染, 其中西方国家感染率为25%-50%, 发展中国家高达90%^[4]. 自从1982年澳大利亚学者Warren和Marshall从慢性胃炎患者胃窦黏膜分离出*H. pylori*以来, *H. pylori*已经被公认为导致慢性胃炎、消化性溃疡等发生的致病菌, WHO在1994年将*H. pylori*列为I类

致癌因子^[5]. *H. pylori*感染若不予根除, 将伴随人体一生. 其中, 90%的*H. pylori*感染者可无明显症状, 其余10%感染者将表现为慢性胃炎、消化性溃疡, 严重者可发展为胃癌、胃MALT淋巴瘤等消化系统恶性疾病^[6]. 此外, *H. pylori*感染还参与特发性血小板减少性紫癜、缺铁性贫血及慢性荨麻疹等消化系以外疾病的发生^[7-9]. *H. pylori*具有高感染率及严重的致病性, 使之成为近年来微生物学和临床医学领域最被关注的研究热点之一, 但其确切致病机制迄今尚未完全阐明. 因此, 深入阐明*H. pylori*感染相关疾病的发生机制, 探索干预*H. pylori*感染的新策略, 具有重要的理论和实践指导意义.

*H. pylori*感染所致的炎症反应与免疫异常是导致胃黏膜屏障损伤的重要机制之一. 人体感染*H. pylori*后, 能诱导胃黏膜上皮细胞应答分泌多种炎性细胞因子, 如IL-1、IL-6、IL-8和TNF- α 等, 从而诱发和促进炎症反应^[10]; *H. pylori*感染还可激发机体产生强烈的细胞免疫应答, 表现为: 胃黏膜Th1细胞应答占优势, 通过分泌IL-2、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、TNF等而导致持续的胃黏膜炎症反应, 机体无法清除*H. pylori*感染; 反之, Th2细胞可减缓黏膜炎症反应, 并抑制*H. pylori*定植于胃黏膜^[11,12]; Th1细胞应答强度与疾病严重程度呈正相关^[13]. 因此, Th1/Th2细胞偏移在*H. pylori*感染致病中起重要作用, 但导致其偏离的机制尚不清楚.

TLR家族是一类重要的模式识别受体, 包括TLR1-TLR13, 其表达于多种免疫细胞表面, 通过识别相应的病原体组分即病原相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)而启动胞内信号转导, 并参与炎症反应和适应性免疫应答. 已发现, PAMP-TLR信号通路与*H. pylori*感染致病关系密切^[14], 其机制为: *H. pylori*或其菌体成分[如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、热休克蛋白60(heat shock proteins 60, HSP60)]与免疫细胞表面TLR结合 \rightarrow 髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖性信号途径 \rightarrow 激活下游信号分子[核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)、转录激活蛋白(activator protein 1, AP-1)等] \rightarrow 促进炎症分子分泌 \rightarrow 诱发胃黏膜炎症反应^[15]. 虽然各种TLR共享下游信号通路, 但是不同的配体却能导致同一种TLR产生不同的免疫反应^[16,17]. TLR信号通路除了参与*H. pylori*

■研究前沿
TLR信号通路在*H. pylori*感染所致的炎症反应与免疫异常中发挥重要作用, 但目前确切机制尚不清楚, 这是当前乃至今后的研究热点.

■相关报道

大量研究证实胞外HMGB1可介导非特异性炎症反应,参与组织损伤、清除异物、组织修复等;启动、增强适应性免疫应答,广泛参与炎症反应、移植排斥反应、自身免疫病、肿瘤等多种免疫病理过程的发生和发展。

介导的炎症反应以外,还与Th1/Th2细胞偏移有关。不同病原体PAMP与固有免疫细胞表面相应TLR结合,介导不同炎性细胞因子合成与分泌,并诱导Th0细胞分化为不同功能亚群[Th1、Th2或调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)等]^[18],但其确切机制尚不清楚。

2 HMGB1参与*H. pylori*感染相关疾病的发生

HMGB1属高迁移率蛋白(high mobility group protein, HMG)家族成员,因在聚丙烯酰胺凝胶电泳中具有高迁移能力而得名。正常情况下, HMGB1广泛存在于各类组织细胞胞核内,发挥调节基因转录、稳固胞核结构等功能^[19]。在组织细胞坏死或某些免疫细胞遭受刺激的情况下, HMGB1作为一类重要的损伤相关的分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP),可被动或主动地释放至胞外^[20]。胞外HMGB1的主要受体是晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)、TLR2和TLR4^[21-23],其中TLR4是HMGB1介导细胞因子释放所必需^[24-26]。胞外HMGB1与相应受体结合,可发挥多种生物学效应:(1)介导非特异性炎症反应^[27,28],参与组织损伤、清除异物、组织修复等;(2)激活树突状细胞(dendritic cell, DC),促进CD4⁺T细胞分化、增殖^[29],启动、增强适应性免疫应答;(3)广泛参与多种免疫病理过程的发生和发展^[30],如急慢性炎症(脓毒症、肺炎、肝炎等)^[31-33]、自身免疫病(如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等)^[34-36]、肿瘤^[37]、移植排斥反应^[38]等。

HMGB1介导的炎症反应与*H. pylori*感染相关疾病密切相关。*H. pylori*所含的LPS成分及细胞空泡毒素(vacuolating cytotoxin, VacA)蛋白均可强烈刺激免疫细胞分泌HMGB1^[39,40]。释放至胞外的HMGB1与*H. pylori*毒素[VacA、细胞毒素相关蛋白A(cytotoxin-associated gene A protein, Cag A)]一样,均能通过MAPK磷酸化和核因子NF- κ B途径促进多种炎性因子表达,从而介导或加重炎症反应^[41];*H. pylori*毒素VacA可刺激胃上皮细胞株AGS细胞高表达HMGB1,*H. pylori*毒素、HMGB1与IL-8可协同参与炎症反应^[42]。临床资料也证明HMGB1与*H. pylori*感染相关,例如:慢性活动性胃炎患者血清HMGB1及其他警报素水平升高^[43];在*H. pylori*所致胃炎发病中,*H. pylori*可诱导HMGB1表达和释放,可能是参与胃肠黏膜免疫损伤的重要效应分子^[44]。

另外, HMGB1介导的免疫调节作用与Th1/Th2细胞偏移有关。有研究发现,不同剂量HMGB1可通过抗原提呈细胞及协同刺激分子途径参与Th1/Th2、Tc1/Tc2亚群的调节^[45]。因此,推测HMGB1在*H. pylori*感染引起的炎症反应与免疫异常中具有重要作用,但其作用机制尚待阐明。

3 丙酮酸乙酯(ethyl pyruvate, EP)抑制HMGB1释放的抗*H. pylori*感染策略

HMGB1参与多种疾病发生,以其为靶点探索相关的干预策略受到高度关注。已报道, HMGB1抗体、HMGB1 A box(HMGB1拮抗剂)、EP等可通过不同途径干预HMGB1表达和功能,均有可能成为临床干预HMGB1相关疾病的新策略^[46-48]。其中, EP作用并非如HMGB1抗体或A box那样具有特异性,但其作为一种食品添加剂被美国食品和药品管理局划分为无毒性物质,因此具有重要的临床治疗开发研究的价值。

EP是丙酮酸的酯化物,研究发现丙酮酸在出血性休克和心肌、肝、肾的缺血再灌注模型中均有保护作用^[49],但其在水溶液中的不稳定性,限制了其在临床上的使用。为了开发出一种丙酮酸的稳定制剂,研究发现EP具有其相同的生物学作用,二者均能减轻大鼠肠黏膜损伤,并且等量EP溶液的保护作用更显著^[50]。EP药效学作用的机制为:改善氧化还原反应所致细胞损伤;减少促炎因子分泌;增强抗肿瘤免疫;在不同条件下可抑制或促进细胞凋亡等。近年来发现, EP还是一种有效的HMGB1释放抑制剂。相关文献报道为^[51-53]:抑制损伤早期炎症因子(IL-1 α 、IL-6、IL-8及TNF- α)产生,并降低感染后期致炎因子HMGB1释放;下调出血性休克鼠肝脏和肠黏膜NF- κ B活性,抑制HMGB1等促炎因子释放,降低动物死亡率^[54];明显抑制LPS刺激的巨噬细胞主动分泌HMGB1、TNF- α 等,改善大鼠存活率^[55]。因此, EP以其使用安全、作用稳定且具有较宽泛的治疗窗口期等优点,作为HMGB1拮抗剂在临床治疗中具有潜在应用前景,但其抑制HMGB1释放的确切机制尚不明确。

4 结论

HMGB1的生物效应的多样性及其分布的广泛性,使其在*H. pylori*感染相关性疾病中发挥重要的作用,但是大多数研究还处于临床实验探索阶段。阐明HMGB1/TLR信号通路在*H. pylori*感染引起的炎症反应和免疫异常中的作用,将为深入阐

明*H. pylori*感染相关疾病的免疫致病机制具有重要意义, 将为临床以HMGB1为靶点用于防治*H. pylori*感染相关疾病提供重要的实验依据。

5 参考文献

- 1 Storr M. [Helicobacter pylori - Update 2013]. *Med Monatsschr Pharm* 2013; 36: 172-176; quiz 177-178 [PMID: 23758027]
- 2 Roubaud Baudron C, Franceschi F, Salles N, Gasbarrini A. Extragastric diseases and Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 44-51 [PMID: 24011245 DOI: 10.1111/hel.12077]
- 3 龚非力. HMGB1——一种重要的警报素. *现代免疫学* 2009; 3: 179-184
- 4 Alazmi WM, Siddique I, Alateeqi N, Al-Nakib B. Prevalence of Helicobacter pylori infection among new outpatients with dyspepsia in Kuwait. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 14 [PMID: 20128917 DOI: 10.1186/1471-230X-10-14]
- 5 Cover TL, Blaser MJ. Helicobacter pylori in health and disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 1863-1873 [PMID: 19457415 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.01.073]
- 6 Agarwal K, Agarwal S. Helicobacter pylori vaccine: from past to future. *Mayo Clin Proc* 2008; 83: 169-175 [PMID: 18241627 DOI: 10.4065/83.2.169]
- 7 Fujimura K. [Idiopathic thrombocytopenic purpura]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 1436-1441 [PMID: 23967676]
- 8 Ozkasap S, Yarali N, Isik P, Bay A, Kara A, Tunc B. The role of prohepcidin in anemia due to Helicobacter pylori infection. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30: 425-431 [PMID: 23560993 DOI: 10.3109/08880018.2013.783144]
- 9 Magen E, Schlesinger M, Hadari I. Chronic urticaria can be triggered by eradication of Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2013; 18: 83-87 [PMID: 23067254 DOI: 10.1111/hel.12010]
- 10 侯艳玲, 林亚平, 史冬梅. 幽门螺杆菌感染致急性胃黏膜损伤与相关细胞因子关系的研究进展. *中国中急危重症* 2012; 21: 1460-1462
- 11 Li HB, Zhang JY, He YF, Chen L, Li B, Liu KY, Yang WC, Zhao Z, Zou QM, Wu C. Systemic immunization with an epitope-based vaccine elicits a Th1-biased response and provides protection against Helicobacter pylori in mice. *Vaccine* 2012; 31: 120-126 [PMID: 23137845 DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.10.091]
- 12 Mohammadi M, Nedrud J, Redline R, Lycke N, Czinn SJ. Murine CD4 T-cell response to Helicobacter infection: TH1 cells enhance gastritis and TH2 cells reduce bacterial load. *Gastroenterology* 1997; 113: 1848-1857 [PMID: 9394724 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70004-0]
- 13 Serrano C, Diaz MI, Valdivia A, Godoy A, Peña A, Rollan A, Kirberg A, Hebel E, Fierro J, Klapp G, Venegas A, Harris PR. Relationship between Helicobacter pylori virulence factors and regulatory cytokines as predictors of clinical outcome. *Microbes Infect* 2007; 9: 428-434 [PMID: 17336120 DOI: 10.1016/j.micinf.2006.12.012]
- 14 Schmausser B, Andrusis M, Endrich S, Lee SK, Josenhans C, Müller-Hermelink HK, Eck M. Expression and subcellular distribution of toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on the gastric epithelium in Helicobacter pylori infection. *Clin Exp Immunol* 2004; 136: 521-526 [PMID: 15147355 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2004.02464.x]
- 15 Ko SH, Yoo DY, Kim YJ, Choi SM, Kang KK, Kim H, Kim N, Kim JS, Kim JM. A mechanism for the action of the compound DA-6034 on NF- κ B pathway activation in Helicobacter pylori-infected gastric epithelial cells. *Scand J Immunol* 2011; 74: 253-263 [PMID: 21623862 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2011.02577.x]
- 16 Franklin BS, Parroche P, Ataíde MA, Lauw F, Ropert C, de Oliveira RB, Pereira D, Tada MS, Nogueira P, da Silva LH, Björkbacka H, Golenbock DT, Gazzinelli RT. Malaria primes the innate immune response due to interferon-gamma induced enhancement of toll-like receptor expression and function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5789-5794 [PMID: 19297619 DOI: 10.1073/pnas.0809742106]
- 17 Ma Y, He M, Qiang L. Exercise Therapy Downregulates the Overexpression of TLR4, TLR2, MyD88 and NF- κ B after Cerebral Ischemia in Rats. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 3718-3733 [PMID: 23434667 DOI: 10.3390/ijms14023718]
- 18 Re F, Strominger JL. Heterogeneity of TLR-induced responses in dendritic cells: from innate to adaptive immunity. *Immunobiology* 2004; 209: 191-198 [PMID: 15481153 DOI: 10.1016/j.imbio.2004.03.005]
- 19 Bianchi ME, Manfredi AA. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein at the crossroads between innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2007; 220: 35-46 [PMID: 17979838 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2007.00574.x]
- 20 Dumitriu IE, Baruah P, Valentinis B, Voll RE, Herrmann M, Nawroth PP, Arnold B, Bianchi ME, Manfredi AA, Rovere-Querini P. Release of high mobility group box 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products. *J Immunol* 2005; 174: 7506-7515 [PMID: 15944249]
- 21 Wen Z, Xu L, Chen X, Xu W, Yin Z, Gao X, Xiong S. Autoantibody induction by DNA-containing immune complexes requires HMGB1 with the TLR2/microRNA-155 pathway. *J Immunol* 2013; 190: 5411-5422 [PMID: 23616573 DOI: 10.4049/jimmunol.1203301]
- 22 Ding HS, Yang J, Gong FL, Yang J, Ding JW, Li S, Jiang YR. High mobility group [corrected] box 1 mediates neutrophil recruitment in myocardial ischemia-reperfusion injury through toll like receptor 4-related pathway. *Gene* 2012; 509: 149-153 [PMID: 22890140 DOI: 10.1016/j.gene.2012.07.072]
- 23 Ibrahim ZA, Armour CL, Phipps S, Sukkar MB. RAGE and TLRs: relatives, friends or neighbours? *Mol Immunol* 2013; 56: 739-744 [PMID: 23954397 DOI: 10.1016/j.molimm.2013.07.008]
- 24 Yang H, Lundbäck P, Ottosson L, Erlandsson-Harris H, Venereau E, Bianchi ME, Al-Abed Y, Andersson U, Tracey KJ, Antoine DJ. Redox modification of cysteine residues regulates the cytokine activity of high mobility group box-1 (HMGB1). *Mol Med* 2012; 18: 250-259 [PMID: 22105604 DOI: 10.2119/molmed.2011.00389]
- 25 Venereau E, Casagrandi M, Schiraldi M, Antoine DJ, Cattaneo A, De Marchis F, Liu J, Antonelli A, Preti A, Raeli L, Shams SS, Yang H, Varani L, Andersson U, Tracey KJ, Bachi A, Uguccioni M, Bianchi ME. Mutually exclusive redox forms of HMGB1 promote cell recruitment or proinflammatory cytokine release. *J Exp Med* 2012; 209: 1519-1528 [PMID:

■创新盘点

本文较系统体现了HMGB1及其胞外受体TLR在*H. pylori*感染引起的炎症反应和Th1/Th2免疫反应异常中的作用, 指出HMGB1/TLR信号通路与*H. pylori*感染所致的疾病相关。

■应用要点

HMGB1及其TLR信号通路在*H. pylori*感染中表达上调或功能异常,有望通过EP抑制HMGB1释放调节*H. pylori*感染引起的炎症反应与免疫异常,从而寻求一种以HMGB1为靶点的抗*H. pylori*感染策略。

■名词解释

HMGB1: 一种高度保守的核蛋白,广泛分布于哺乳动物细胞。HMGB1先前也称HMG1、amphoterin或SBP-1,因在聚丙烯酰胺凝胶电泳中具有高迁移能力而得名。随着其晚期促炎作用的发现, HMGB1成为近年来医学研究的热点之一。

- 26 Nadatani Y, Watanabe T, Tanigawa T, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. High mobility group box 1 promotes small intestinal damage induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs through Toll-like receptor 4. *Am J Pathol* 2012; 181: 98-110 [PMID: 22634181 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.03.039]
- 27 Dumitriu IE, Baruah P, Manfredi AA, Bianchi ME, Rovere-Querini P. HMGB1: guiding immunity from within. *Trends Immunol* 2005; 26: 381-387 [PMID: 15978523 DOI: 10.1016/j.it.2005.04.009]
- 28 Yanai H, Ban T, Taniguchi T. High-mobility group box family of proteins: ligand and sensor for innate immunity. *Trends Immunol* 2012; 33: 633-640 [PMID: 23116548 DOI: 10.1016/j.it.2012.10.005]
- 29 王忠堂, 姚咏明, 盛志勇, 刘歆, 黄岩, 孙丹. HMGB1对淋巴细胞增殖、凋亡及TH和TC亚群的影响. *中国微生物学与免疫学杂志* 2007; 7: 663-665
- 30 Yamada S, Maruyama I. HMGB1, a novel inflammatory cytokine. *Clin Chim Acta* 2007; 375: 36-42 [PMID: 16979611 DOI: 10.1016/j.cca.2006.07.019]
- 31 Dal-Pizzol F, Pasquali M, Quevedo J, Gelain DP, Moreira JC. Is there a role for high mobility group box 1 and the receptor for advanced glycation end products in the genesis of long-term cognitive impairment in sepsis survivors? *Mol Med* 2012; 18: 1357-1358; author reply 1359 [PMID: 23114886 DOI: 10.2119/molmed.2012.00317]
- 32 Entezari M, Weiss DJ, Sitapara R, Whittaker L, Wargo MJ, Li J, Wang H, Yang H, Sharma L, Phan BD, Javdan M, Chavan SS, Miller EJ, Tracey KJ, Mantell LL. Inhibition of high-mobility group box 1 protein (HMGB1) enhances bacterial clearance and protects against *Pseudomonas Aeruginosa* pneumonia in cystic fibrosis. *Mol Med* 2012; 18: 477-485 [PMID: 22314397 DOI: 10.2119/molmed.2012.00024]
- 33 Majumdar M, Ratho R, Chawla Y, Singh MP. High levels of circulating HMGB1 as a biomarker of acute liver failure in patients with viral hepatitis E. *Liver Int* 2013; 33: 1341-1348 [PMID: 23682703 DOI: 10.1111/liv.12197]
- 34 Schaper F, Heeringa P, Bijl M, Westra J. Inhibition of high-mobility group box 1 as therapeutic option in autoimmune disease: lessons from animal models. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25: 254-259 [PMID: 23249831 DOI: 10.1097/BOR.0b013e32835cee2d]
- 35 Cully M. Connective tissue diseases: HMGB1 helps elicit anti-dsDNA antibody production in SLE. *Nat Rev Rheumatol* 2013; 9: 321 [PMID: 23670137 DOI: 10.1038/nrrheum.2013.75]
- 36 Chen Y, Sun W, Gao R, Su Y, Umehara H, Dong L, Gong F. The role of high mobility group box chromosomal protein 1 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2013; 52: 1739-1747 [PMID: 23584368 DOI: 10.1093/rheumatology/ket134]
- 37 Gnanasekar M, Kalyanasundaram R, Zheng G, Chen A, Bosland MC, Kajdacsy-Balla A. HMGB1: A Promising Therapeutic Target for Prostate Cancer. *Prostate Cancer* 2013; 2013: 157103 [PMID: 23766911 DOI: 10.1155/2013/157103]
- 38 Duan L, Wang CY, Chen J, Gong Q, Zhu P, Zheng F, Tan Z, Gong F, Fang M. High-mobility group box 1 promotes early acute allograft rejection by enhancing IL-6-dependent Th17 alloreactive response. *Lab Invest* 2011; 91: 43-53 [PMID: 20714327 DOI: 10.1038/labinvest.2010.141]
- 39 El Gazzar M. HMGB1 modulates inflammatory responses in LPS-activated macrophages. *Inflamm Res* 2007; 56: 162-167 [PMID: 17522814 DOI: 10.1007/s00011-006-6112-0]
- 40 Radin JN, González-Rivera C, Ivie SE, McClain MS, Cover TL. *Helicobacter pylori* VacA induces programmed necrosis in gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2011; 79: 2535-2543 [PMID: 21482684 DOI: 10.1128/IAI.01370-10]
- 41 Chen G, Ward MF, Sama AE, Wang H. Extracellular HMGB1 as a proinflammatory cytokine. *J Interferon Cytokine Res* 2004; 24: 329-333 [PMID: 15212706 DOI: 10.1089/107999004323142187]
- 42 赵琪, 郭继中, 黄学文, 陈国千, 罗瑞华, 黄丽丽, 安仙园, 赵兰静. 幽门螺杆菌VacA蛋白体外诱导胃上皮AGS细胞内HMGB1的表达. *临床检验杂志* 2011; 29: 279-281
- 43 Kocsis AK. The role of alarmins-human defensins, HMGB1 in gastrointestinal diseases. Albert Szent Gyorgyi Clinical Centre, University of Szeged, 2010
- 44 Sanderson IR, Walker WA. TLRs in the Gut I. The role of TLRs/Nods in intestinal development and homeostasis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G6-10 [PMID: 16844677 DOI: 10.1152/ajpgi.00275.2006]
- 45 Wang ZT, Yao YM, Sheng ZY. [Effect of high mobility group box 1 protein on proliferation and apoptosis and balance between Th1/Th2 and Tc1/Tc2 of lymphocytes in vitro]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2008; 24: 324-327 [PMID: 18394333]
- 46 Yang H, Tracey KJ. Targeting HMGB1 in inflammation. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1799: 149-156 [PMID: 19948257 DOI: 10.1016/j.bbagr.2009.11.019]
- 47 Uzawa A, Mori M, Taniguchi J, Masuda S, Muto M, Kuwabara S. Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Exp Immunol* 2013; 172: 37-43 [PMID: 23480183 DOI: 10.1111/cei.12036]
- 48 Davé SH, Tilstra JS, Matsuoka K, Li F, DeMarco RA, Beer-Stolz D, Sepulveda AR, Fink MP, Lotze MT, Plevy SE. Ethyl pyruvate decreases HMGB1 release and ameliorates murine colitis. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 633-643 [PMID: 19454652 DOI: 10.1189/jlb.1008662]
- 49 Sharma P, Mongan PD. Hypertonic sodium pyruvate solution is more effective than Ringer's ethyl pyruvate in the treatment of hemorrhagic shock. *Shock* 2010; 33: 532-540 [PMID: 19953008 DOI: 10.1097/SHK.0b013e328318cc02b3]
- 50 Sims CA, Wattanasirichaigoon S, Menconi MJ, Ajami AM, Fink MP. Ringer's ethyl pyruvate solution ameliorates ischemia/reperfusion-induced intestinal mucosal injury in rats. *Crit Care Med* 2001; 29: 1513-1518 [PMID: 11505117 DOI: 10.1097/00003246-200108000-00003]
- 51 Corl CM, Robinson HR, Contreras GA, Holcombe SJ, Cook VL, Sordillo LM. Ethyl pyruvate diminishes the endotoxin-induced inflammatory response of bovine mammary endothelial cells. *J Dairy Sci* 2010; 93: 5188-5199 [PMID: 20965334 DOI: 10.3168/jds.2010-3250]
- 52 Yu DH, Noh DH, Song RH, Park J. Ethyl pyruvate downregulates tumor necrosis factor alpha and interleukin (IL)-6 and upregulates IL-10 in lipopolysaccharide-stimulated canine peripheral blood mononuclear cells. *J Vet Med Sci* 2010; 72: 1379-1381 [PMID: 20495301 DOI: 10.1292/jvms.09-0590]

- 53 Wang Y, Yin P, Huang S, Wang J, Sun R. Ethyl pyruvate protects against lipopolysaccharide-induced white matter injury in the developing rat brain. *Int J Dev Neurosci* 2013; 31: 181-188 [PMID: 23280059 DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2012.12.005]
- 54 Yang ZY, Ling Y, Yin T, Tao J, Xiong JX, Wu HS, Wang CY. Delayed ethyl pyruvate therapy attenuates experimental severe acute pancreatitis via reduced serum high mobility group box 1 levels in rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4546-4550 [PMID: 18680237 DOI: 10.3748/wjg.14.4546]
- 55 Luan ZG, Zhang H, Ma XC, Zhang C, Guo RX. Therapeutic treatment with ethyl pyruvate attenuates the severity of liver injury in rats with severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2012; 41: 729-737 [PMID: 22699144 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31823cd3ef]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



■同行评价

本文就HMGB1/TLR信号通路与*H. pylori*感染的关系进行阐述,并分析其在*H. pylori*感染所致的炎症反应与免疫异常中的重要性,具有一定创新性和实用性,目前相关文献不多,可给读者带来新信息。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益,本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删节时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。

靶向沉默caveolin-1基因对胃癌耐药细胞增殖和迁移影响

张 晔, 曲秀娟, 刘云鹏, 徐 玲, 赵明芳, 侯科佐, 滕月娥

■背景资料

Caveolin-1(Cav-1)与恶性肿瘤发生发展及化疗耐药相关。目前研究认为,在肿瘤进入快速增殖、转移及耐药阶段,Cav-1蛋白表达明显增加,以适应新环境及耐受凋亡。

张晔, 曲秀娟, 刘云鹏, 徐玲, 赵明芳, 侯科佐, 滕月娥, 中国医科大学附属第一医院肿瘤内科 辽宁省沈阳市 110001
张晔, 博士, 副教授, 主要从事消化系统肿瘤信号转导通路的相关研究。国家自然科学基金资助项目, Nos. 81270036, 30901736, 81201802

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 2013021057

作者贡献分布: 此课题由张晔、曲秀娟及刘云鹏设计; 研究过程由张晔、徐玲、赵明芳及滕月娥完成; 研究所用试剂与分析工具由侯科佐提供; 数据分析由张晔与徐玲完成; 本论文写作由张晔完成。

通讯作者: 刘云鹏, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤内科。

cmuliuyunpeng@hotmail.com

电话: 024-83282312

收稿日期: 2013-08-16 修回日期: 2013-10-10

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-18

Silencing of the caveolin-1 gene inhibits proliferation and migration of multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells

Ye Zhang, Xiu-Juan Qu, Yun-Peng Liu, Ling Xu, Ming-Fang Zhao, Ke-Zuo Hou, Yue-E Teng

Ye Zhang, Xiu-Juan Qu, Yun-Peng Liu, Ling Xu, Ming-Fang Zhao, Ke-Zuo Hou, Yue-E Teng, Department of Medical Oncology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270036, 30901736, and 81201802; and the Science and Technology Project of Liaoning Province, No. 2013021057

Correspondence to: Yun-Peng Liu, Professor, Department of Medical Oncology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. cmuliuyunpeng@hotmail.com

Received: 2013-08-16 Revised: 2013-10-10

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of silencing of the caveolin-1 (*cav-1*) gene on the proliferation and migration of multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells (SGC7901/ADR) and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: A siRNA specific for the *cav-1* gene was transfected into SGC7901/ADR cells using Lipofectamine 2000. The proliferation and

migration of SGC7901/ADR cells were detected by MTT assay and transwell assay, respectively. The mRNA expression of *cav-1* was determined by RT-PCR. The protein expression of Cyclin D1, Cyclin A1 and Cyclin E was determined by Western blot.

RESULTS: Compared with the control group, the mRNA expression of *cav-1* was significantly decreased in SGC7901/ADR cells after transfection ($P < 0.05$). The proliferation and migration of SGC7901/ADR cells were inhibited significantly after *cav-1* silencing. Additionally, the protein expression of Cyclin D1 and Cyclin A1 was obviously inhibited. However, silencing of *cav-1* did not affect Cyclin E expression.

CONCLUSION: Silencing of the *cav-1* gene inhibits the proliferation and migration of human gastric cancer SGC7901/ADR cells possibly by decreasing the expression of Cyclin D1 and Cyclin A1.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Caveolin-1 gene; RNA interference; Gastric cancer; Proliferation; Migration

Zhang Y, Qu XJ, Liu YP, Xu L, Zhao MF, Hou KZ, Teng YE. Silencing of the caveolin-1 gene inhibits proliferation and migration of multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3532-3536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3532>

摘要

目的: 探讨靶向沉默caveolin-1(*cav-1*)基因对阿霉素(adriamycin, ADR)诱导的人胃癌耐药细胞SGC7901/ADR增殖和迁移作用的影响及可能机制。

方法: 通过小干扰RNA转染胃癌细胞SGC7901/ADR, 以未转染细胞为正常对照组, 转染siRNA Control为阴性对照组, RT-

■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

PCR法检测靶向沉默*cav-1*基因的效果, MTT法检测各组SGC7901/ADR细胞的增殖能力, Transwell小室迁移实验检测各组SGC7901/ADR细胞的迁移能力, Western blot检测细胞周期相关蛋白Cyclin D1、Cyclin A1和Cyclin E蛋白表达水平。

结果: 靶向沉默*cav-1*基因显著抑制胃癌SGC7901/ADR细胞增殖, $P<0.05$; 靶向沉默*cav-1*基因显著下调细胞周期相关蛋白Cyclin D1和Cyclin A1, 但对Cyclin E无影响; 同时, 靶向沉默*cav-1*基因显著抑制胃癌SGC7901/ADR细胞迁移能力。

结论: 靶向沉默*cav-1*基因可抑制胃癌耐药细胞的增殖和迁移, 可能与其抑制细胞周期相关蛋白Cyclin D1、Cyclin A1和迁移相关分子有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: caveolin-1基因; RNA干扰; 胃癌; 肿瘤增殖; 肿瘤迁移

核心提示: 靶向沉默*cav-1*基因可抑制胃癌耐药细胞的增殖和迁移, 可能与其抑制细胞周期相关蛋白Cyclin D1、Cyclin A1和迁移相关分子有关。

张晔, 曲秀娟, 刘云鹏, 徐玲, 赵明芳, 侯科佐, 滕月娥. 靶向沉默caveolin-1基因对胃癌耐药细胞增殖和迁移影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3532-3536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3532>

0 引言

胞膜窖(caveolae)是细胞质膜向内凹陷所形成的囊状脂筏结构, 广泛存在于各种类型的细胞中, 与细胞胞吞、信号传导、跨膜物质转运等多种细胞功能密切相关. Caveolin-1(Cav-1)是其标志性蛋白, 修饰caveolae的内表面, 关联和富集大量信号分子, 与恶性肿瘤发生发展及化疗耐药相关^[1,2]. Cav-1在多种肿瘤中出现异常表达, 但不同肿瘤组织和细胞系Cav-1蛋白表达情况缺乏一致性变化. 目前研究普遍认为, 在肿瘤发生早期Cav-1蛋白表达较低, 以避免其发挥抑制肿瘤发生发展的作用; 随着肿瘤进入快速增殖、转移及耐药阶段, Cav-1蛋白表达明显增加, 以适应新环境及耐受凋亡, 即Cav-1在不同肿瘤的发生发展过程中发挥着不同的作用^[3-5]. 本研究旨在通过靶向沉默胃癌耐药细胞SGC7901/阿霉素

(adriamycin, ADR)的*cav-1*基因, 深入探讨*cav-1*基因与胃癌耐药细胞增殖、迁移的关系, 为寻找新的药物靶标及为个体化用药提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养基、胰蛋白酶购自HyClone公司; 胎牛血清购自天津血研所; 四甲基偶氮唑盐(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)均购自美国Sigma公司; 总RNA抽提试剂TRIzol购自Invitrogen公司; RT-PCR试剂盒购自TaKaRa公司; 鼠抗人Cyclin D1、Cyclin A1、Cyclin E单克隆抗体、兔抗人 β -actin单克隆抗体均购自Santa Cruz公司; Transwell小室购自Millipore公司; 转染试剂Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司; PCR引物合成于大连TaKaRa公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染: 人胃癌耐药细胞SGC7901/ADR由中国医科大学肿瘤研究所保存, 在含100 mL/L胎牛血清、12 U/mL庆大霉素的RPMI 1640中, 37 °C, 饱和湿度及50 mL/L CO₂的孵育箱内传代培养, 取对数生长期细胞进行实验. 实验分3组: 未转染的对照组、转染siRNA control的阴性对照组、转染siRNA *cav-1*沉默组. 转染方法按Lipofectamine 2000的说明书进行。

1.2.2 Cav-1的siRNA及阴性对照序列的构建: *cav-1*的RNA干扰序列(siRNA *cav-1*): 5'-AAC-CAGAAGGGACACACAGTT-3'; 阴性对照序列(siRNA Control): 5'-AATTCTCCGAACGTGT-CACGT-3'^[6], 由上海吉玛制药技术有限公司合成。

1.2.3 MTT法检测细胞增殖实验: 取对数生长期的SGC7901/ADR细胞制成单细胞悬液, 以每孔 5×10^4 个细胞接种于96孔培养板, 设3个复孔. 实验分3组: 对照组、siRNA Control组、siRNA *cav-1*组. 37 °C、50 mL/L CO₂细胞培养箱中培养. 12 h后换无血清RPMI 1640培养液200 μ L继续培养12 h, 使细胞周期同步化, 然后换含100 mL/L胎牛血清培养液, 分别再培养24、48、72、96 h后终止培养, 在避光条件下加5 g/L MTT溶液25 μ L/孔, 继续孵育4 h后吸弃上清, 加入DMSO 200 μ L/孔. 用酶标仪于570 nm波长条件下测定吸光度(A)值. 实验重复3次。

1.2.4 Transwell小室迁移实验: 将Transwell小室置入24孔板中. 收集各组细胞用2.5 g/L胰酶消化, 用无血清的RPMI 1640培养液按 5×10^4 个/mL的密度100 μ L接种于上室. 吸取含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液500 μ L接种于下室, 置于

■研发前沿

本研究通过靶向沉默胃癌耐药细胞SGC7901/ADR的*cav-1*基因, 深入探讨*cav-1*基因与胃癌耐药细胞增殖、迁移的关系, 为寻找新的药物靶标及为个体化用药提供实验依据。

■相关报道

Yang等发现, 高表达Cav-1使乳腺癌耐药细胞具有更强的生长能力和抗凋亡能力. Burgermeister等证实, 在化疗耐药阶段, Caveolae结构和Cav-1蛋白表达明显增多。

■创新盘点

本研究通过靶向沉默胃癌耐药细胞中Cav-1表达,抑制其增殖和迁移的生物学特性,使其恶性程度降低,为胃癌耐药细胞的分子靶向治疗提供了新的理论依据。

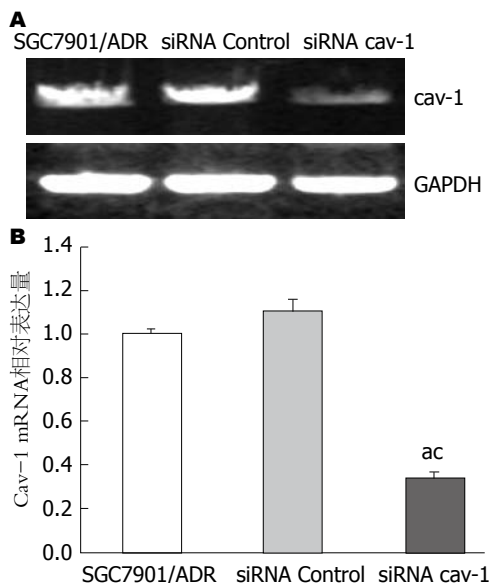


图1 siRNA靶向沉默对SGC7901/ADR细胞Cav-1 mRNA表达的抑制作用。A: siRNA靶向沉默对SGC7901/ADR细胞cav-1 mRNA表达的抑制作用; B: RT-PCR产物凝胶电泳条带相对吸光度值的比较。^a $P<0.05$ vs SGC7901/ADR组; ^a $P<0.05$ vs siRNA Control组。ADR: 阿霉素。

37 °C、50 mL/L CO₂的培养箱中培养24 h。移液器移走Transwell小室的下室和上室内液体,去除滤膜上层未迁移的胃癌细胞, PBS冲洗滤膜3遍, 甲醇固定, Giemsa染色, 计数穿过微孔移至滤膜下层的细胞数。共计数中央和四周5个视野, 取平均值。

1.2.5 蛋白印记法(Western blot)检测蛋白表达: 参照我们已发表文献[7], 4 °C预冷PBS洗涤各组细胞, 收集 2×10^6 个, 裂解于100 μ L含有蛋白酶抑制剂(1 mmol/L PMSF, 2 μ g/mL Aprotinin)的RIPA裂解液中(1% Triton-100, 150 mmol/L NaCl, 10 mmol/L EDTA pH 8.0, 50 mmol/L Tris-HCl pH 7.4, 100 mmol/L NaF, 100 mmol/L Na Vanadate), 超声粉碎(30 J, 5 s/次, 5次), 4 °C裂解40 min, 4 °C 15000 r/min, 离心30 min取上清。以上步骤均于冰上操作。采用Lowry法进行总蛋白定量。以1:2比例与3 \times 样品缓冲液混匀, 煮沸5 min。将样品(22 μ g/lane)在12%的SDS-聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳2 h。后通过半干式转印(恒流60 mA 20 min, 后120 mA 15 min)转印到硝酸纤维素膜上, 5%脱脂奶粉封闭2 h, 按预染Marker标记的分子量剪裁转印膜, 一抗(鼠抗人单克隆抗体Cyclin D1 1:500、Cyclin A1 1:500、Cyclin E 1:500、兔抗人单克隆抗体 β -actin 1:1000), 4 °C过夜, 二抗(山羊抗鼠 1:800、山羊抗兔 1:800)室温孵育30 min, 显色、图象采集及分析处理。实验重复3次。

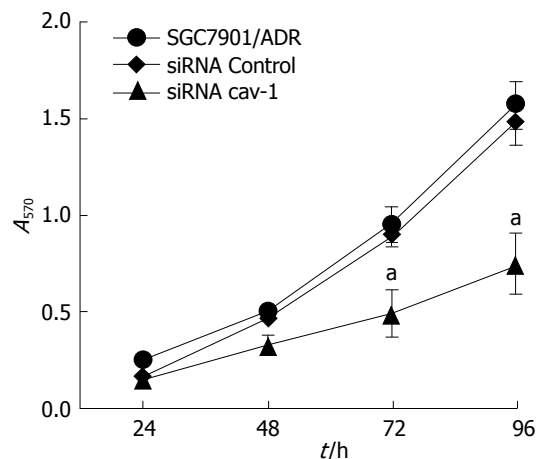


图2 siRNA靶向沉默Cav-1对SGC7901/ADR细胞增殖的影响。^a $P<0.05$ vs SGC7901/ADR组; ^a $P<0.05$ vs siRNA Control组。ADR: 阿霉素。

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行分析。各组间计量资料采用mean \pm SD表示, 各组样本均数的比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 siRNA靶向沉默对SGC7901/ADR细胞cav-1 mRNA表达的抑制作用 RT-PCR检测结果显示, 与对照组和siRNA Control组相比, siRNA cav-1组细胞中cav-1 mRNA的表达水平显著下调($P<0.05$)(图1)。

2.2 Cav-1靶向沉默对SGC7901/ADR细胞增殖能力的抑制作用 MTT测定细胞生长曲线, 结果显示沉默cav-1基因在72 h和96 h明显抑制SGC7901/ADR细胞的增殖, 与对照组和转染siRNA Control组比较差异有统计学意义($P<0.05$, 图2)。

2.3 Cav-1靶向沉默对SGC7901/ADR细胞周期相关蛋白表达的影响 靶向沉默cav-1 48 h后, Western blot检测发现与对照组和siRNA Control组相比, siRNA cav-1组的Cyclin D1和Cyclin A1蛋白表达水平显著下调, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图3)。而Cyclin E蛋白表达在3组中差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 Cav-1靶向沉默对SGC7901/ADR细胞迁移能力的影响 体外迁移实验结果显示, 对照组和转染siRNA Control组穿过小室底部小孔的胃癌细胞数无明显差异, 而干扰组穿过小室底部小孔的胃癌细胞数与对照组和转染siRNA Control组相比, 分别下降了65.1%和70.2%, 差异有统计学意义($P<0.05$)(图4)。

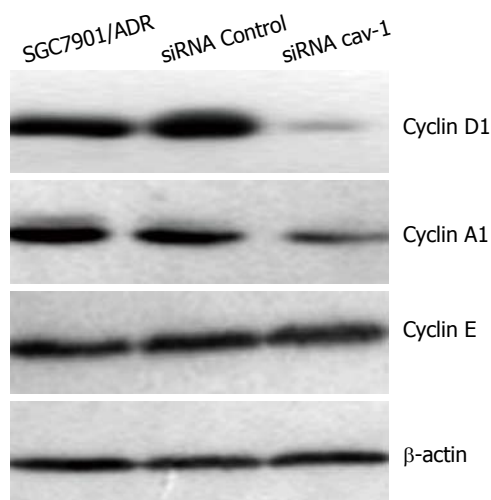


图3 siRNA靶向沉默Cav-1对SGC7901/ADR细胞周期相关蛋白Cyclin D1、Cyclin A1和Cyclin E表达的影响。

3 讨论

胃癌是一个多基因参与、多阶段变异累积形成的病理过程, 涉及癌基因的活化、抑癌基因的失活、细胞周期的调控失常、转录子异常活化和表遗传学等方面。作为一种以浸润性生长为特点的恶性肿瘤, 胃癌侵袭和转移途径的多样性导致了其死亡率逐年上升^[8]。研究作为信号传导枢纽的caveolae结构标记蛋白Cav-1与胃癌细胞增殖和迁移的关系, 可以为寻找新的靶向治疗靶点提供思路。

Gao等^[9]应用免疫组织化学方法检测发现, 胃癌中Cav-1的表达阳性率为30.2%, 而胃炎中Cav-1的表达为100%, 其中高、中、低分化腺癌组中Cav-1表达无显著差异。同时采用RT-PCR法检测了胃癌MGC803和BGC823细胞株中cav-1的表达, 发现上述两株胃癌细胞株中cav-1的表达下调, 提示cav-1可能伴随胃癌的发生发展而表达逐步下调。罗红梅等^[10]运用基因重组技术, 将人全长cav-1基因稳定转染至胃癌MGC803细胞中, 发现cav-1转染后的MGC803细胞形态发生明显变化, 胞核变小、胞质丰富、核/质比例降低, 核分裂相少见, 提示cav-1具有诱导分化的作用。Yang等^[11]研究发现, 高表达Cav-1使乳腺癌耐药细胞Hs578T/Dox具有更强的生长能力和抗凋亡能力。Burgermeister等^[12]认为肿瘤在形成和发展过程中需要不断地适应外界环境, 在化疗耐药阶段, 为适应变化的新环境, 发挥信号传导中枢作用的Caveolae结构和Cav-1蛋白表达会明显增多。本研究发现cav-1 mRNA在胃癌耐药细胞SGC7901/ADR中过表达, 通过Lipo 2000将cav-1的siRNA转染SGC7901/ADR, 与对照组和

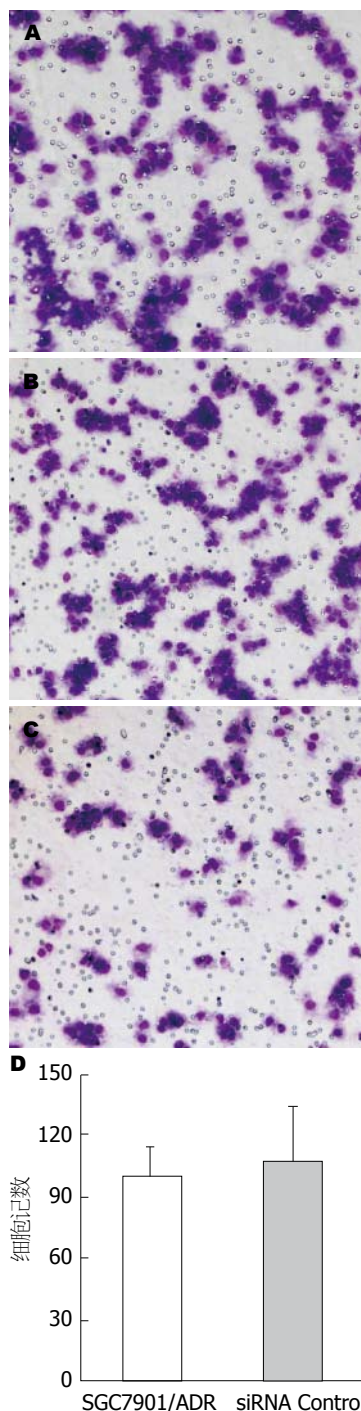


图4 siRNA靶向沉默Cav-1对SGC7901/ADR细胞迁移能力的影响。A: SGC7901/ADR组; B: siRNA Control组; C: siRNA cav-1组; D: 细胞学计数。* $P < 0.05$ vs SGC7901/ADR组; ^{ac} $P < 0.05$ vs siRNA Control组。ADR: 阿霉素。

转染siRNA Control组比较, cav-1 mRNA表达受到显著抑制。采用MTT法检测24、48、72和96 h siRNA cav-1对SGC7901/ADR细胞增殖的影响, 结果发现细胞在靶向沉默cav-1 72和96 h后与对照组相比生长明显减缓。目前研究认为细胞增殖水平主要受细胞周期G₁期调节, 而Cyclin D1、Cyclin A1及Cyclin E主要负责调控G₁/S期

■应用要点

靶向沉默cav-1基因可抑制胃癌耐药细胞的增殖和迁移, 为今后恶性肿瘤的分子靶向治疗提供了新的作用靶点。

■同行评价

本文探讨了靶向沉默 $cav-1$ 基因对人胃癌耐药细胞SGC7901/ADR增殖和迁移作用的影响及部分作用机制,有一定的科学意义。

的转换^[13-15]。本研究发现,靶向沉默 $cav-1$ 48 h后与对照组和siRNA Control组相比, siRNA $cav-1$ 组的Cyclin D1和Cyclin A1蛋白表达水平显著下调,而Cyclin E蛋白表达在3组中差异无统计学意义,提示靶向沉默 $cav-1$ 后,参与调控细胞周期相关的信号通路受到抑制,影响G₁期细胞分化能力,并改变了Cyclin D1和Cyclin A1蛋白对细胞周期的调节作用。此外,本研究中靶向沉默 $cav-1$ 与对照组和siRNA Control组相比,穿过Transwell底部小孔的数目明显减少,差异具有统计学意义,提示靶向沉默 $cav-1$ 的胃癌耐药细胞SGC7901/ADR的迁移能力受到了抑制。其原因可能靶向沉默 $cav-1$ 后影响细胞外基质的降解,减弱细胞突破基底膜而形成转移灶的能力,从而可能影响胃癌耐药细胞的迁移、侵袭等运动能力。

总之,我们通过靶向沉默胃癌耐药细胞SGC7901/ADR细胞中Cav-1的表达,可抑制其增殖和迁移的生物学特性,使其恶性程度降低。本研究对于胃癌耐药细胞的分子靶向治疗提供了新的理论依据。

4 参考文献

- Hansen CG, Shvets E, Howard G, Riento K, Nichols BJ. Deletion of cavin genes reveals tissue-specific mechanisms for morphogenesis of endothelial caveolae. *Nat Commun* 2013; 4: 1831 [PMID: 23652019 DOI: 10.1038/ncomms2808]
- Briand N, Dugail I, Le Lay S. Cavin proteins: New players in the caveolae field. *Biochimie* 2011; 93: 71-77 [PMID: 20363285 DOI: 10.1016/j.biochi.2010.03.022]
- Zhao X, He Y, Gao J, Fan L, Li Z, Yang G, Chen H. Caveolin-1 expression level in cancer associated fibroblasts predicts outcome in gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e59102 [PMID: 23527097 DOI: 10.1371/journal.pone.0059102]
- Bocci G, Fioravanti A, Orlandi P, Di Desidero T, Natale G, Fanelli G, Viacava P, Naccarato AG, Francia G, Danesi R. Metronomic ceramide analogs inhibit angiogenesis in pancreatic cancer through up-regulation of caveolin-1 and thrombospondin-1 and down-regulation of cyclin D1. *Neoplasia* 2012; 14: 833-845 [PMID: 23019415]
- Song Y, Xue L, Du S, Sun M, Hu J, Hao L, Gong L, Yeh D, Xiong H, Shao S. Caveolin-1 knockdown is associated with the metastasis and proliferation of human lung cancer cell line NCI-H460. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 439-447 [PMID: 22898083 DOI: 10.1016/j.biopha.2012.03.001]
- Pani B, Ong HL, Brazer SC, Liu X, Rauser K, Singh BB, Ambudkar IS. Activation of TRPC1 by STIM1 in ER-PM microdomains involves release of the channel from its scaffold caveolin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 20087-20092 [PMID: 19897728]
- Zhang Y, Qu X, Hu X, Yang X, Hou K, Teng Y, Zhang J, Sada K, Liu Y. Reversal of P-glycoprotein-mediated multi-drug resistance by the E3 ubiquitin ligase Cbl-b in human gastric adenocarcinoma cells. *J Pathol* 2009; 218: 248-255 [PMID: 19274672 DOI: 10.1073/pnas.0905002106]
- Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42: 211-217 [PMID: 23639637 DOI: 10.1016/j.gtc.2013.01.002]
- Gao X, Sun Y, Huang L, Chen XY, Zhang KL, Kong QY, Liu J, Li H. [Down-regulation of caveolin-1 in gastric carcinoma and its clinical biological significance]. *Ai Zheng* 2005; 24: 311-316 [PMID: 15757532]
- 罗红梅, 唐圣松, 廖端芳, 严鹏科, 谭力铭, 汪煜华, 龙治峰, 刘月顺, 朱炳阳. Caveolin-1对胃癌细胞系MGC803细胞生长的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1448-1452
- Yang G, Truong LD, Timme TL, Ren C, Wheeler TM, Park SH, Nasu Y, Bangma CH, Kattan MW, Scardino PT, Thompson TC. Elevated expression of caveolin is associated with prostate and breast cancer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 1873-1880 [PMID: 9717814]
- Burgermeister E, Liscovitch M, Röcken C, Schmid RM, Ebert MP. Caveats of caveolin-1 in cancer progression. *Cancer Lett* 2008; 268: 187-201 [PMID: 18482795 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.055]
- Zhao X, Yang W, Shi C, Ma W, Liu J, Wang Y, Jiang G. The G1 phase arrest and apoptosis by intrinsic pathway induced by valproic acid inhibit proliferation of BGC-823 gastric carcinoma cells. *Tumour Biol* 2011; 32: 335-346 [PMID: 21113745 DOI: 10.1007/s13277-010-0126-5]
- Singh AK, Swarnalatha M, Kumar V. c-ETS1 facilitates G1/S-phase transition by up-regulating cyclin E and CDK2 genes and cooperates with hepatitis B virus X protein for their deregulation. *J Biol Chem* 2011; 286: 21961-21970 [PMID: 21515670 DOI: 10.1074/jbc.M111.238238]
- Zhang YY, Xu ZN, Wang JX, Wei DM, Pan XL. G1/S-specific cyclin-D1 might be a prognostic biomarker for patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2133-2137 [PMID: 22901182]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



重症急性胰腺炎肠道屏障损伤时sPLA₂的表达及清胰汤的影响

张经文, 陈海龙, 王玉玺, 王超

张经文, 陈海龙, 王玉玺, 大连医科大学附属第一医院普外科 辽宁省大连市 116011

王超, 临沂市人民医院 山东省临沂市 273400

张经文, 在读博士, 主要从事胆胰疾病的基础与临床研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81173452

作者贡献分布: 此课题由张经文与陈海龙设计; 研究过程由张经文与王超操作完成; 研究所用试剂及分析工具部分由陈海龙提供; 数据分析由张经文与王玉玺完成; 论文写作由张经文完成.

通讯作者: 陈海龙, 教授, 116011, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院普外科. hailongchen2007@163.com

电话: 0411-83600680 传真: 0411-83631284

收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-10-06

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-18

Expression of sPLA₂ in intestine barrier injury in rats with severe acute pancreatitis: Implications for therapeutic effect of Qingyitang

Jing-Wen Zhang, Hai-Long Chen, Yu-Xi Wang, Chao Wang

Jing-Wen Zhang, Hai-Long Chen, Yu-Xi Wang, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Chao Wang, Department of Surgery, Linyi People Hospital, Linyi 273400, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173452

Correspondence to: Hai-Long Chen, Professor, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China. hailongchen2007@hotmail.com

Received: 2013-09-04 Revised: 2013-10-06

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of secreted phospholipase A₂ (sPLA₂) in the intestine tissue of rats with severe acute pancreatitis (SAP) and to analyze its implications for therapeutic effects of Qingyitang.

METHODS: Forty healthy Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham group, a SAP group, a Qingyitang group, and a dexamethasone group. SAP was induced by retrograde infusion of 1.5% sodium deoxycholate into the biliopancreatic duct of rats except the sham

operation group. All rats were killed 24 h after operation. Pathological alterations of the intestine and pancreas were observed under a light microscope. Serum amylase (AMY) was determined by biochemical method. Blood levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and diamineoxidase (DAO) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemical method. The expression levels of sPLA₂ mRNA and protein in the intestine were analyzed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively.

RESULTS: The expression levels of sPLA₂ mRNA and protein in the intestine tissue and serum levels of AMY, DAO, and TNF- α were significantly higher in the SAP group than in the sham operation group ($P < 0.05$); however, these indexes in the Qingyitang group and dexamethasone group were significantly lower than those in the SAP group (AMY: 4047.6 U/L \pm 600.9 U/L, 4914.4 U/L \pm 200 U/L vs 7208.8 U/L \pm 264.6 U/L, both $P < 0.05$; DAO: 22.430 U/L \pm 2.13 U/L, 24.272 U/L \pm 3.36 U/L vs 37.889 U/L \pm 5.86 U/L, both $P < 0.05$; TNF- α : 122.35 ng/L \pm 15.2 ng/L, 136.99 ng/L \pm 23.4 ng/L vs 180.53 ng/L \pm 20.1 ng/L, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: sPLA₂ may play a role in the pathogenesis of acute intestine barrier injury in rats with severe acute pancreatitis. Qingyitang decreases intestinal permeability and bacterial translocation possibly by inhibiting overexpression of sPLA₂ in the intestine.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Intestine barrier injury; Phospholipase A₂; Qingyitang

Zhang JW, Chen HL, Wang YX, Wang C. Expression of sPLA₂ in intestine barrier injury in rats with severe acute pancreatitis: Implications for therapeutic effect of Qingyitang. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3537-3542 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3537>

■背景资料

急性胰腺炎发病急、变化快。其中10%-20%急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者随时可发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),特别是伴发全身炎症反应综合征和多器官衰竭时,死亡率可达25%-30%,而其发病机制至今未完全阐明,临床救治非常棘手。

■同行评议者

陈其奎, 教授, 主任医师, 中山大学附属第二医院消化内科

■研究前沿

目前普遍认为SAP伴发多器官衰竭的始动因素为肠道屏障损伤、肠道屏障的损伤和其在SAP发病机制中的作用成为当前研究的热点。

摘要

目的: 探讨分泌型磷脂酶A₂(secreted phospholipase A₂, sPLA₂)在重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)肠道屏障损伤时的表达及作用, 观察清胰汤对其表达及病情转归的影响。

方法: 40只SD大鼠随机分为: 假手术组、SAP组、清胰汤组和地塞米松组, 采用胆胰管逆行注射1.5%去氧胆酸钠制备SAP大鼠模型, 造模后24 h取胰、肠组织及静脉血, 观察胰和肠组织病理改变, ELISA法测定大鼠血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量, 化学法检测血清二胺氧化酶(diamineoxidase, DAO)含量, 全自动生化分析仪检测血清淀粉酶(amylase, AMY)含量, RT-PCR法检测肠组织sPLA₂ mRNA的表达, Western blot法检测肠组织sPLA₂蛋白的表达。

结果: 与假手术组比较, SAP组血清淀粉酶、TNF- α 和二胺氧化酶(7208.8 U/L \pm 264.6 U/L vs 1358.8 U/L \pm 458.2 U/L、180.53 ng/L \pm 20.1 ng/L vs 59.67 ng/L \pm 14.3 ng/L、37.889 U/L \pm 5.86 U/L vs 10.374 U/L \pm 2.44 U/L)含量明显升高、肠组织中sPLA₂ mRNA和蛋白含量均明显增高, 胰、肠组织病理损伤明显。与SAP组相比, 清胰汤组、地塞米松组的血清淀粉酶、TNF- α 和二胺氧化酶(AMY: 4047.6 U/L \pm 600.9 U/L, 4914.4 U/L \pm 200 U/L vs 7208.8 U/L \pm 264.6 U/L, 均 P <0.05; DAO: 22.430 U/L \pm 2.13 U/L, 24.272 U/L \pm 3.36 U/L vs 37.889 U/L \pm 5.86 U/L, 均 P <0.05; TNF- α : 122.35 ng/L \pm 15.2 ng/L, 136.99 ng/L \pm 23.4 ng/L vs 180.53 ng/L \pm 20.1 ng/L, 均 P <0.05)含量显著降低、肠组织中sPLA₂ mRNA和蛋白均不同程度降低, 胰、肠病理损伤较轻。

结论: SAP时过度表达的sPLA₂在肠道屏障损伤中起重要作用; 清胰汤能减轻胰和肠组织的病理损害, 对抗sPLA₂在肠组织中的过度表达。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 肠道屏障损伤; 分泌型磷脂酶A₂; 清胰汤

核心提示: 本研究显示, 重症急性胰腺炎并发肠道屏障损伤时, 分泌型磷脂酶A₂(secreted phospholipase A₂, sPLA₂)mRNA和sPLA₂蛋白的表达明显升高, 清胰汤、地塞米松可以降低磷脂酶A₂的表达, 减轻胰和肠组织的损伤, 为进一步探究重症急性胰腺炎时肠道屏障损伤的发病机制提供理论支持。

张经文, 陈海龙, 王玉玺, 王超. 重症急性胰腺炎肠道屏障损伤时sPLA₂的表达及清胰汤的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3537-3542 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3537>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种外科常见急腹症, 早期常可因为伴发全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征而导致患者死亡^[1], 而这些严重伴发征的形成往往是由肠道屏障损伤后肠道内的大量细菌和内毒素, 通过血液循环和淋巴途径作用于全身各个脏器^[2], 激活了体内单核巨噬细胞系统, 释放大量的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素、白介素等炎症因子, 通过“扳机样作用”触发炎症介质的“瀑布样级联反应”^[3], 进一步加重组织损伤, 分泌型磷脂酶A₂(secreted phospholipase A₂, sPLA₂)作为一个极其重要的损伤因子, 在大量炎症因子的刺激下, sPLA₂过度表达, 并通过降解细胞表面活性物质, 水解生物膜上的卵磷脂而加重器官和组织损伤^[4,5]. 清胰汤(qingyitang, QYT)能有效的通腑利肠泻肺实, 中和内毒素降低其毒性, 促进肠内有毒物质的排出保护肠道屏障, 其对SAP时肠道屏障损伤的防治作用及作用机制已成为近年来研究的热点^[6]. 因此, 本文通过制备SAP大鼠模型, 观察sPLA₂在SAP大鼠肠组织的表达情况, 探讨sPLA₂在SAP肠道屏障损伤中的作用及清胰汤的干预作用, 为临床有效调控炎症因子, 保护肠道屏障提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠40只, 体质量180-220 g, 由大连医科大学清洁级实验动物中心提供; RT-PCR试剂盒和RNAiso Plus购自大连宝生物公司; 引物由大连宝生物公司合成, sPLA₂: 5'-GTGGCAGGATCCCCAAGG-3'(上游), 5'-GCAACTGGGCGTGTTCCTCTGCA-3'(下游), 产物长度: 283 bp; sPLA₂抗体购自美国SANTA公司; 二胺氧化酶(diamineoxidase, DAO)检测试剂盒购自南京建成公司; SDS-PAGE、全蛋白提取液购自南京凯基生物公司; 琼脂糖购自美国Sigma公司; 清胰汤: 由柴胡15 g、黄芩12 g、元胡15 g、木香15 g、白芍15 g、栀子15 g、大黄15 g(后下)、芒硝15 g(冲服)组成, 由大连医科大学中药科熬制, 药液制成后4℃保存72 h内使用。

1.2 方法

1.2.1 分组和造模: 40只清洁SD大鼠随机分为: 假手术组(sham operation, SO)、SAP模型组、QYT组、地塞米松组(dexamethasone, DEX), 采用胆胰管内逆行注入1.5%去氧胆酸钠, 建立大鼠SAP肠道屏障损伤模型。大鼠术前禁食12 h、自由饮水, 10%水合氯醛(剂量为3 mL/kg)麻醉。无菌条件下, 开腹显露十二指肠大乳头, 在十二指肠大乳头胆胰管开口处的对侧肠壁插入1 mL注射器, 针头经十二指肠大乳头的胆胰管开口处逆行进入胆胰管, 匀速注入1.5%去氧胆酸钠(剂量1 mL/kg, 速度0.1 mL/min), 注毕2 min关腹。SO组于开腹后仅轻翻胰腺数次后关腹。DEX组(剂量: 10 mg/kg, 浓度: 5 mg/mL)于造模后立即、6和12 h静脉注射药物。QYT组造模前0.5 h、造模后6和12 h再次灌胃(剂量: 10 mL/kg)。各组动物造模后24 h, 麻醉下开腹, 腹主动脉采血, 留血清-80 °C保存, 待测血清淀粉酶、二胺氧化酶、TNF- α 的含量。迅速取胰腺、肠组织(距回盲部近端1 cm)各100 mg, -80 °C保存待测组织sPLA₂ mRNA及蛋白的表达水平。剩余的胰腺、肠组织, 置入中性磷酸盐甲醛固定液中。

1.2.2 胰腺和肠组织的病理形态学观察: 胰腺、肠组织, 置入中性磷酸盐甲醛固定液中, 液体石蜡包埋, 以2 μ m连续切片, 进行常规HE染色观察病理组织学变化。

1.2.3 二胺氧化酶检测: 采用DAO检测试剂盒。血清80 μ L+检测试剂(Tris-HCl、还原型辅酶、谷氨酸脱氢酶、1,4-丁二胺混合液)800 μ L, 混匀后20 s时读取340 nm波长的吸光度记录为A₁值, 立即放入37 °C水浴锅反应10 min, 10 min 20 s时读取340 nm波长的吸光度记录为A₂值。DAO活力(U/L) = (A₁-A₂)/[反应时间(10 min)×比色光径(0.5 cm)×6.3(NADH 340 nm处毫摩尔消光系数)]×[反应液总体积(880 μ L)/样本体积(80 μ L)]×1000。

1.2.4 血清淀粉酶含量测定: 全自动生化分析仪检测, 取50 μ L大鼠血清1:600纯水稀释后上机检测。

1.2.5 血清TNF- α 检测: 采用酶联免疫吸附剂测定(ELISA)试剂盒, 加入待测样本40 μ L、抗TNF- α 抗体10 μ L和辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素50 μ L, 在37 °C环境中反应60 min, 再于洗涤后加入显色剂A液和B液各50 μ L, 37 °C避光条件下显色反应10 min后测量各样品的A值, 再

根据样品的吸光度用回归方程计算出其所对应的样品中TNF- α 的含量。

1.2.6 肠组织sPLA₂ mRNA的检测: 采用反转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)技术, 50 mg肠组织加RNAisoPlus 1 mL, 匀浆后取上清加入200 μ L氯仿, 震荡离心后, 取上清液加等体积异丙醇, 混匀后离心, 管底出现沉淀即为总RNA沉淀, 紫外光度计测得A₂₆₀/A₂₈₀值在1.8-2.0之间。PCR按常规操作其中退火温度为60 °C持续30 s, 循环30次, 用紫外成像系统读取PCR产物的琼脂糖凝胶电泳结果并拍照保存, 采用灰度分析肠sPLA₂ mRNA条带灰度值与其对应内参 β -actin条带灰度值的比值即肠组织sPLA₂ mRNA表达水平。

1.2.7 肠组织sPLA₂蛋白的检测: 采用蛋白印迹Western blot法检测, 100 mg肠组织加入1 mL蛋白提取液, 匀浆后离心取蛋白, 紫外分光光度计测蛋白含量, 蛋白上样量100 μ g, 电泳时间30 min, 转膜14 min, 37 °C封闭1 h, 一抗(1:400)4 °C摇床孵育过夜, 漂洗3次, 二抗(1:10000)37 °C轻摇孵育1 h, 漂洗3次, HRP-ECL发光, 胶片曝光, 用灰度分析软件分析结果。

统计学处理 各检测结果数据用mean \pm SD表示, 通过SPSS13.0统计软件, 采用单因素方差分析的方法对各组均数进行显著性检验, 指标间的分析采用Pearson积矩相关分析来说明相关性。P<0.05差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺和肠组织病理学改变 各组大鼠的胰及肠组织病理改变差异明显, 其中SO组胰腺小叶和肠黏膜结构清晰未出现水肿出血, SAP组胰腺小叶结构模糊, 大量炎细胞浸润出现大片出血, 坏死面积超过50%, 肠黏膜上皮细胞出现片状坏死。而QYT、DEX组病理损伤较SAP组明显减轻, QYT组肠黏膜上皮细胞肿胀但大体形态正常, DEX组除细胞肿胀变形外还有不同程度的炎细胞浸润(图1)。

2.2 血清淀粉酶检测结果 与SO组相比较, SAP组大鼠的血淀粉酶显著升高(P<0.01)。与SAP组比较QYT、DEX组大鼠血淀粉酶降低明显(P<0.05), 其中QYT组降低更为明显(表1)。

2.3 血清TNF- α 水平 与SO组相比较, SAP组血清TNF- α 含量显著升高(P<0.01)。与SAP组比较, QYT、DEX组血清TNF- α 含量显著降低

■ 相关报道

自从1988年Wilmore提出“肠道中心学说”以来, 人们对于肠道屏障损伤在胰腺炎伴发多器官衰竭中的作用有了较深入的认识, 相关的动物模型研究非常多, 系统深入的分子水平研究报道还不多见。

■创新盘点

本研究通过观察分泌型磷脂酶A₂(secreted phospholipase A₂, sPLA₂)在肠道屏障损伤中的作用,为深入探寻肠道屏障在重症急性胰腺炎伴发多器官衰竭发病机制中的作用及临床诊治措施提供有益的线索.

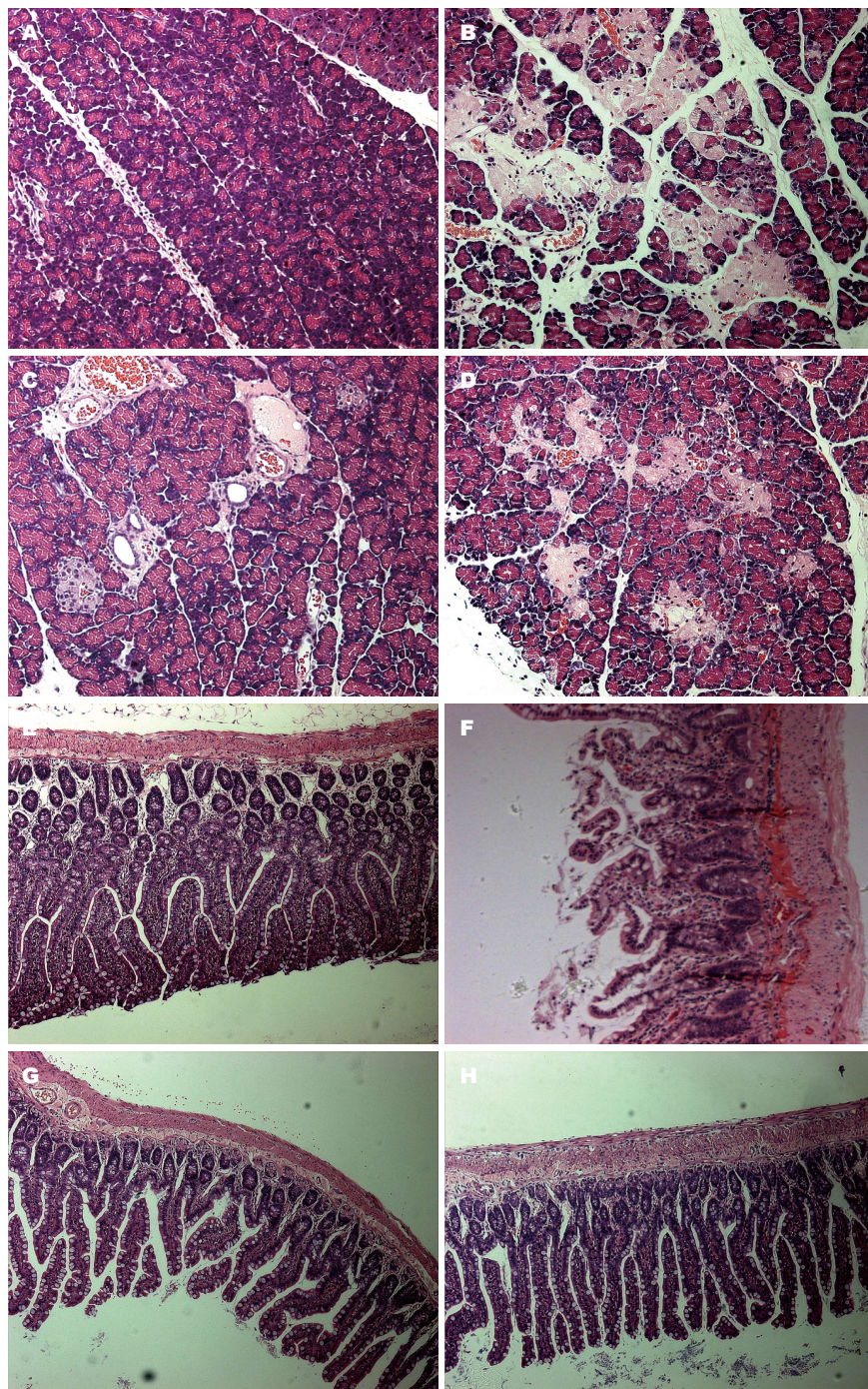


图1 大鼠胰和肠组织病理变化(H&E染色×200). A: 假手术组胰腺; B: 重症急性胰腺炎胰腺; C: 清胰汤组胰腺; D: 地塞米松组胰腺; E: 假手术组肠; F: 重症急性胰腺炎组肠; G: 清胰汤组肠; H: 地塞米松组肠.

($P<0.05$, 表1).

2.4 血清DAO水平 与SO组相比较, SAP组血清二胺氧化酶(DAO)显著升高($P<0.01$). 与SAP组相比较QYT、DEX组血清DAO含量显著降低($P<0.05$), 其中QYT组的DAO降低更为明显(表1).

2.5 sPLA₂ mRNA在肠组织中的表达水平 与SO组相比较, 在SAP组肠组织sPLA₂ mRNA的表达显著升高($P<0.01$). 与SAP组比较, QYT、DEX组

肠组织sPLA₂ mRNA的表达显著降低($P<0.05$). 同时其在QYT、DEX组、的表达较SO组有不同程度升高($P<0.01$, 图2).

2.6 sPLA₂蛋白在肠组织中的表达水平 与SO组相比较, sPLA₂蛋白在SAP组肠组织中表达显著升高($P<0.01$), 与SAP组比较, QYT、DEX组sPLA₂蛋白的表达明显下降($P<0.05$), 以QYT组表达下降更明显, QYT、DEX组该蛋白表达较SO组有明显升高($P<0.05$, 图3).

表 1 大鼠AMY、TNF- α 、DAO结果(mean \pm SD)

分组	AMY(U/L)	TNF- α (ng/L)	DAO(U/L)
SO组	1358.8 \pm 458.2	59.67 \pm 14.3	10.374 \pm 2.44
SAP组	7208.8 \pm 264.6 ^b	180.53 \pm 20.1 ^b	37.889 \pm 5.86 ^b
QYT组	4047.6 \pm 600.9 ^a	122.35 \pm 15.2 ^a	22.430 \pm 2.13 ^a
DEX组	4914.4 \pm 200 ^a	136.99 \pm 23.4 ^a	24.272 \pm 3.36 ^a

^a P <0.05 vs SAP组; ^b P <0.01 vs SO组. AMY: 淀粉酶; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; DAO: 二胺氧化酶; SAP: 重症急性胰腺炎; SO: 假手术; QYT: 清胰汤; DEX: 地塞米松.

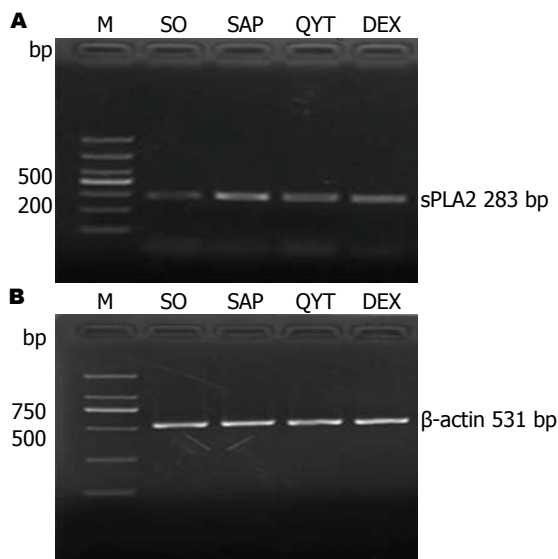


图 2 sPLA₂ mRNA肠组织中的表达. A: RT-PCR方法检测肠sPLA₂ mRNA表达, 产物长度283 bp; B: RT-PCR方法检测肠内参 β -actin mRNA表达, 产物长度531 bp. M: 2000 bp-Marker; SO: 假手术组; SAP: 重症急性胰腺炎组; QYT: 清胰汤组; DEX: 地塞米松组.

3 讨论

sPLA₂广泛存在于哺乳动物的组织和细胞中, 其可以在磷脂重建、传递细胞信号等生理过程中发挥重要的作用. 但在某些严重疾病, 如SAP时, 过度表达的sPLA₂, 不仅降解细胞表面活性物质, 使组织顺应性下降, 还能促进花生四烯酸(arachidonic acid, AA)、前列腺素(prostaglandin, PG)、血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)等生物活性介质的释放^[7-9], sPLA₂的过度表达主要由炎性介质的刺激而产生, 也是小肠缺血再灌注损伤的重要因素^[10,11]. sPLA₂可以通过降解细胞膜的磷脂成分从而直接损伤肠黏膜, 也可间接引起微循环障碍、缺血再灌注损伤和调节炎症细胞因子网络, 从而对肠黏膜屏障发起攻击. 在SAP的发生发展过程中, 肠管的运动能力减弱, 可引起麻痹性肠梗阻^[12], 肠道内致病菌大量繁殖, 在大量炎症因子和致伤

应用要点

本研究证实sPLA₂在急性胰腺炎肠道屏障损伤的发生过程中具有重要作用, 清胰汤、地塞米松可以通过降低磷脂酶A₂的表达, 减轻肠和胰腺组织的损伤, 合理的中西医结合治疗能多层次、多水平、多途径的对SAP进行有效的治疗.

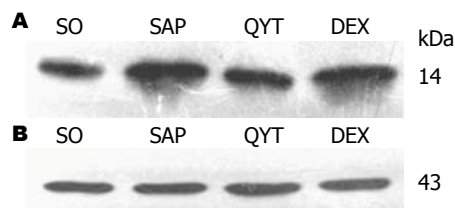


图 3 肠组织sPLA₂的Western blot结果. A: 肠sPLA₂蛋白的表达; B: 肠内参 β -actin蛋白的表达. SO: 假手术; SAP: 重症急性胰腺炎; QYT: 清胰汤; DEX: 地塞米松.

因素的联合作用下^[12], 肠黏膜上皮细胞大量凋亡和坏死^[13], 破坏了肠黏膜机械屏障, 并释放大量如磷脂酶和二胺氧化酶等活性物质. 同时Wilmore等首次提出的, 即认为肠道屏障损伤可能是引发SIRS或MODS的始动因素之一^[14-17]. 因此, 研究sPLA₂在SAP肠道屏障损伤发病机制中的作用, 具有重要的意义. 我们发现, 在SAP大鼠模型建立24 h后, 胰腺和肠组织损伤性病理变化明显, 血清AMY、TNF- α 、DAO水平明显升高, RT-PCR和Western blot法检测sPLA₂ mRNA和蛋白的表达显著升高, 且二者呈正相关关系. 该实验以血清AMY水平和胰腺病理变化来判定胰腺组织损伤程度, 以血清DAO水平和肠组织病理变化来判定肠道屏障损伤程度. 该实验中显示, 肠道屏障损伤程度与sPLA₂ mRNA和蛋白的表达呈正相关关系, sPLA₂的过度表达同时发生在转录和翻译水平, 其在SAP肠道屏障损伤的发生过程中具有重要作用.

同时该实验显示, 清胰汤、地塞米松两组药物均能减轻胰腺和肠组织的损伤, 可以降低血清AMY、TNF- α 、DAO水平, 降低sPLA₂ mRNA和蛋白的表达, 其中以清胰汤疗效更为突出. 清胰汤以通里攻下、清热解毒、活血化瘀辅以益气营血为主要治则^[18]. 组方中大黄、芒硝具有通里攻下, 泻热通腑, 涤荡积滞, 通畅腹气, 排出糟粕的作用, 结合该方中元胡活血化淤, 配合木香、柴胡、白芍可起到疏肝理气之功效^[19]. 通里攻下

■同行评价

本文观察了sPLA₂在SAP肠道屏障损伤时的表达及清胰汤对其表达及SAP病情转归的影响。研究SAP肠道屏障及其影响因素对SAP的防治,以及预后转归有较好的理论意义和临床价值。

有利于减轻肠麻痹的症状,能促进肠腔内过度表达的磷脂酶、血管活性物质及毒性物质的排除,减少肠道细菌的增殖,降低因细菌易位及大量内毒素入血引起的毒性作用,对抗炎症介质过度表达的损伤作用^[8,20]。但清胰汤对SAP肠道屏障损伤时sPLA₂表达水平的影响,尚未见深入研究。地塞米松作为一种临床上常用的抗炎剂,能抑制炎症反应,减少炎性渗出,维持血管通透性,对抗因磷脂酶A₂激发而大量释放的血小板活化因子等导致血管通透性增加的作用,从而起到缓解炎症反应减轻组织损伤的作用。本实验通过观察清胰汤对SAP大鼠的干预效果,以地塞米松干预组为参照发现,其可以在转录和翻译水平有效降低sPLA₂的表达水平,减轻肠道屏障的损伤程度。而且,该前期实验结果显示,单位时间内肠黏膜内sPLA₂表达明显高于肺组织内sPLA₂表达,具有显著的统计学意义。表明sPLA₂在肠道屏障损伤中的作用值得引起注意。

在对两种药物干预效果进行比较后,可以发现在大鼠SAP模型建立后的前6 h内,地塞米松干预组大鼠的生命活力优于清胰汤组,但在模型建立后24 h时的生存状态明显差于清胰汤组。清胰汤组大鼠的病情进展较为平缓,清胰汤的治疗作用虽起效较慢,但其作用时间较长,且作用较地塞米松更为稳定。在临床对重症急性胰腺炎特别是伴发肺损伤的治疗中已广泛应用,目前根据急性胰腺炎的临床分期、病情演变等特点,应用中医辨证论治、因人、因地、因时制宜的理论,充分利用中药的整体观和综合治疗作用,将清胰汤与地塞米松、胰酶抑制剂、抗氧化剂、抗生素等西药有机结合起来使用,并不失时机地选择外科手术引流、腹腔灌洗、床旁血滤等微创和介入治疗方法,发挥其各自的优点,降低急性胰腺炎肺损伤等并发症的发生率和死亡率。

4 参考文献

- 1 Tenner S, Sica G, Hughes M, Noordhoek E, Feng S, Zinner M, Banks PA. Relationship of necrosis to organ failure in severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1997; 113: 899-903 [PMID: 9287982 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70185-9]
- 2 陈海龙, 吴咸中, 裴德凯. 肠道屏障在多器官功能不全综合征中的发病学意义探讨. *中华普通外科杂志* 1998; 13: 50

- 3 张志宏, 徐肇敏, 于中麟. 急性胰腺炎消化病学精要系列丛书胰腺疾病. 第1版. 辽宁: 辽宁科学技术出版社, 2005: 184-189
- 4 吴锦鸿, 许国根, 郭英辉. 急性胰腺炎患者血浆磷脂酶A₂的变化及维拉帕米的治疗效应. *中国急救医学* 2007; 27: 103-105
- 5 张雪梅. 肺表面活性物质相关蛋白A、分泌性磷脂酶A₂-II在急性胰腺炎肺损伤中的作用及清胰汤干预机制的实验研究. 大连医科大学, 2008
- 6 吴咸中. 急性胰腺炎的中西医结合治疗. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 417-418
- 7 韩玲, 陈可冀. 大鼠心肌整体缺血及离体再灌注致生物膜的损伤作用. *中国应用生理学杂志* 2002; 18: 59-62
- 8 Bingham CO, Austen KF. Phospholipase A2 enzymes in eicosanoid generation. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111: 516-524 [PMID: 10591080 DOI: 10.1046/j.1525-1381.1999.99321.x]
- 9 Furue S, Hori Y, Kuwabara K, Ikeuchi J, Onoyama H, Yamamoto M, Tanaka K. Increased activity of group II phospholipase A2 in plasma in rat sodium deoxycholate induced acute pancreatitis. *Gut* 1997; 41: 826-831 [PMID: 9462218 DOI: 10.1136/gut.41.6.826]
- 10 袁耀宗, 汤玉茗. 重视肠屏障功能的研究. *中华消化杂志* 2006; 26: 577-578
- 11 McHowat J, Liu S. Interleukin-1beta stimulates phospholipase A2 activity in adult rat ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1997; 272: C450-C456 [PMID: 9124287]
- 12 刘晓臣, 白顺艳, 彭燕. 重症急性胰腺炎时肠屏障功能障碍的发生机制. *泸州医学院学报* 2007; 30: 77-80
- 13 Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770-776 [PMID: 11048727 DOI: 10.1038/35037710]
- 14 Chen X, Ji B, Han B, Ernst SA, Simeone D, Logsdon CD. NF-kappaB activation in pancreas induces pancreatic and systemic inflammatory response. *Gastroenterology* 2002; 122: 448-457 [PMID: 11832459 DOI: 10.1053/gast.2002.31060]
- 15 Hassoun HT, Kone BC, Mercer DW, Moody FG, Weisbrodt NW, Moore FA. Post-injury multiple organ failure: the role of the gut. *Shock* 2001; 15: 1-10 [PMID: 11198350 DOI: 10.1097/00024382-200115010-00001]
- 16 Luiten EJ, Hop WC, Endtz HP, Bruining HA. Prognostic importance of gram-negative intestinal colonization preceding pancreatic infection in severe acute pancreatitis. Results of a controlled clinical trial of selective decontamination. *Intensive Care Med* 1998; 24: 438-445 [PMID: 9660258 DOI: 10.1007/s001340050593]
- 17 Wilmore DW, Smith RJ, O'Dwyer ST, Jacobs DO, Ziegler TR, Wang XD. The gut: a central organ after surgical stress. *Surgery* 1988; 104: 917-923 [PMID: 3055397]
- 18 吴咸中. 腹部外科实践. 第3版. 天津: 天津科学技术出版社, 2004: 1242-1262
- 19 闻庆平, 陈海龙, 关凤林. 清胰汤对大鼠重症急性胰腺炎时急性肺损伤治疗作用的观察. *中国中西医结合外科杂志* 2003; 8: 302-306
- 20 朱维铭. 急性重症胰腺炎与促炎症细胞因子和炎症介质的关系. *医学研究生* 2000; 13: 106-110

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



金荞麦片对脾虚湿热证腹泻型肠易激综合征大鼠免疫炎症和内脏高敏感性的影响

牛晓玲, 周英豪, 孙书焰, 庄 璘

牛晓玲, 上海市闵行区中医医院消化内科 上海市 201103
周英豪, 孙书焰, 上海中医药大学附属龙华医院中医示范病区 上海市 200032
庄璘, 上海市闵行区中医医院药剂科 上海市 201103
牛晓玲, 主治医师, 主要从事消化内科临床工作和研究。
上海市闵行区科委基金资助项目, No. 2011MHZ64
作者贡献分布: 此课题由牛晓玲与周英豪设计; 动物模型制作、放射免疫、RT-PCR检测分析由孙书焰操作完成; 病理分析由庄璘完成; 论文写作由牛晓玲与周英豪完成。
通讯作者: 周英豪, 副主任医师, 200032, 上海市闵行区合川路3071号, 上海中医药大学附属龙华医院中医示范病区。
zhouyinghao@163.com
电话: 021-64385700
收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-17
接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-18

Influence of Fagopyrum cymosum tablets on immune inflammation and visceral hypersensitivity in a rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

Xiao-Ling Niu, Ying-Hao Zhou, Shu-Yan Sun, Lin Zhuang

Xiao-Ling Niu, Department of Gastroenterology, Minhang District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201103, China
Ying-Hao Zhou, Shu-Yan Sun, Chinese Medicine Demonstration Ward, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Lin Zhuang, Department of Pharmacy, Minhang District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Minhang District, Shanghai 201103, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Science and Technology Commission of Minhang District of Shanghai, No. 2011MHZ64
Correspondence to: Ying-Hao Zhou, Associate Chief Physician, Chinese Medicine Demonstration Ward, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 3071 Hechuan Road, Minhang District, Shanghai 200032, China. zhouyinghao@163.com
Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-07
Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To determine the influence of Fagopyrum cymosum tablets on immune inflammation and visceral hypersensitivity in a rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: IBS was induced in neonatal rats by feeding a high lactose diet, chronic bandaged-stress and inserting the tail. Rats were randomly divided into six groups: a normal control group (group A), a model group (group B), high-, medium- and low-dose Fagopyrum cymosum groups (group C, D and E), and a Gushen Chang'an group (group F). Groups C, D and E received oral administration of 6, 3 and 1.5 g/(kg·d) of Fagopyrum cymosum tablets, respectively, once every day for four weeks; group F received oral administration of 2 g/(kg·d) of Gushen Chang'an; Groups A and B received oral administration of equal volume of normal saline. The colon motion, abdominal withdrawal reflex (AWR) of colorectal distention and abdominal electrical activity were observed. Radioimmunoassay was used to detect serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 17 (IL-17), IL-10, substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP). Fluorescent quantitative PCR was used to detect the expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-hydroxytryptamine 3 receptor (5-HT_{3R}), neurokinin receptor 1 (NK1R) and intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) mRNAs in the intestinal tissue.

RESULTS: Fagopyrum cymosum could decrease colon motion and visceral hypersensitivity in IBS rats ($P < 0.05$ or 0.01). In the Fagopyrum cymosum treatment groups, serum levels of TNF- α ($2.81 \text{ ng/L} \pm 0.67 \text{ ng/L}$, $2.76 \text{ ng/L} \pm 0.31 \text{ ng/L}$, $2.91 \text{ ng/L} \pm 0.77 \text{ ng/L}$ vs $3.77 \text{ ng/L} \pm 0.44 \text{ ng/L}$), IL-17 ($2.01 \text{ ng/L} \pm 0.76 \text{ ng/L}$, $2.14 \text{ ng/L} \pm 0.29 \text{ ng/L}$, $1.98 \text{ ng/L} \pm 0.11 \text{ ng/L}$ vs $2.47 \text{ ng/L} \pm 0.33 \text{ ng/L}$) and SP ($38.22 \text{ pg/mL} \pm 3.15 \text{ pg/mL}$, $37.55 \text{ pg/mL} \pm 2.63 \text{ pg/mL}$, $42.01 \text{ pg/mL} \pm 3.79 \text{ pg/mL}$ vs $43.19 \text{ pg/mL} \pm 4.28 \text{ pg/mL}$) were significantly lower, and those of IL-10 ($137.25 \text{ ng/L} \pm 6.2 \text{ ng/L}$, $135.90 \text{ ng/L} \pm 4.4 \text{ ng/L}$, $121.70 \text{ ng/L} \pm 5.11 \text{ ng/L}$ vs $82.09 \text{ ng/L} \pm 5.33 \text{ ng/L}$) and CGRP ($155.09 \text{ ng/L} \pm 4.38 \text{ ng/L}$, $142.02 \text{ ng/L} \pm 2.44 \text{ ng/L}$, $158.25 \text{ ng/L} \pm 4.02 \text{ ng/L}$ vs $107.31 \text{ ng/L} \pm 3.96 \text{ ng/L}$) were significantly higher than those in the model group.

■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是肠功能紊乱性疾病, 患者多表现与排便或排便习惯改变相关的腹痛或不适, 伴有排便紊乱的特点, IBS 的发病率逐年增高, 已成为全球胃肠道功能性疾病, 本病反复发作, 严重影响患者的生活质量, 医药耗费巨大, 是仅次于上呼吸道感染

的第二大常见病。

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■ 研究前沿

本研究在临床应用金荞麦治疗IBS取得良好疗效的基础上,拟探讨金荞麦片对实验动物肠功能、免疫炎症、肠黏膜通透性、内脏高敏感性和抗应激能力的影响,观察金荞麦片对脾虚湿热证肠易激综合征腹泄型(IRS-D)大鼠的免疫炎症反应和内脏高敏感性的影响,探讨金荞麦片治疗IBS的作用环节和靶点,为寻找具有我国知识产权治疗IBS的中药新制剂开辟新途径。

(all $P < 0.05$ or 0.01). The mRNA expression of 5-HT (0.74 ± 0.43 , 0.97 ± 0.91 , 0.66 ± 0.29 vs 1.27 ± 0.45), 5-HT₃R (1.01 ± 0.35 , 1.14 ± 0.76 , 1.47 ± 0.65 vs 1.61 ± 0.03), NK1R (1.07 ± 0.58 , 0.98 ± 0.67 , 0.88 ± 0.79 vs 1.47 ± 0.94) and ICAM-1 (0.81 ± 0.55 , 0.96 ± 0.19 , 0.72 ± 0.93 vs 1.33 ± 0.26) in the intestinal tissue was down-regulated after treatment with Fagopyrum cymosum tablets ($P < 0.05$ or 0.01), especially in the high-dose group.

CONCLUSION: Fagopyrum cymosum tablets can reduce visceral hypersensitivity and inhibit inflammatory immune response in IRS-D rats in a concentration-dependent manner.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Fagopyrum cymosum tablets; Irritable bowel syndrome; Immune inflammation; Visceral hypersensitivity

Niu XL, Zhou YH, Sun SY, Zhuang L. Influence of Fagopyrum cymosum tablets on immune inflammation and visceral hypersensitivity in a rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3543-3549 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3543.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3543>

摘要

目的: 研究金荞麦片对脾虚湿热证肠易激综合征腹泄型(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IRS-D)大鼠免疫炎症和内脏高敏感性的影响。

方法: 选取SPF级新生SD大鼠,采用高乳糖饲料+慢性束缚+夹尾刺激诱导IRS-D大鼠模型。造模成功后,将实验动物随机分为正常对照组(A组)、模型对照组(B组)、金荞麦片高剂量组(C组)、中剂量组(D组)、低剂量组(E组)、谷参肠安组(F组),金荞麦片组分别给予高剂量[6 g/(kg·d)]、中剂量[3 g/(kg·d)]和低剂量[1.5 g/(kg·d)]中药灌胃,谷参肠安组给予谷参肠安2 g/(kg·d),正常组和模型组分别给予等容积生理盐水灌胃,1次/d。灌胃4 wk后,行直肠内球囊扩张实验(colorectal distention, CRD),观察腹肌收缩反射(abdominal withdrawal reflex, AWR),评估大鼠结肠转运和感觉功能,放射免疫法检测血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-17(interleukin 17, IL-17)、IL-10、P物质(substance P, SP)和降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)

含量,荧光定量PCR检测肠组织5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟色胺₃受体(5-hydroxytryptamine 3 receptor, 5-HT₃R)、神经激肽受体-1(neurokinin receptor 1, NK1R)和细胞间黏附分子(intracellular adhesion molecule-1, ICAM-1)mRNA表达水平。

结果: 与模型组比较,金荞麦片各剂量组大鼠结肠转运功能及内脏高敏感性明显降低($P < 0.05$ 或 0.01),大鼠血清TNF- α (2.81 ng/L ± 0.67 ng/L, 2.76 ng/L ± 0.31 ng/L, 2.91 ng/L ± 0.77 ng/L vs 3.77 ng/L ± 0.44 ng/L)、IL-17(2.01 ng/L ± 0.76 ng/L, 2.14 ng/L ± 0.29 ng/L, 1.98 ng/L ± 0.11 ng/L vs 2.47 ng/L ± 0.33 ng/L)及SP(38.22 pg/mL ± 3.15 pg/mL, 37.55 pg/mL ± 2.63 pg/mL, 42.01 pg/mL ± 3.79 pg/mL vs 43.19 pg/mL ± 4.28 pg/mL)含量均较模型组降低。IL-10(137.25 ng/L ± 6.2 ng/L, 135.90 ng/L ± 4.4 ng/L, 121.70 ng/L ± 5.11 ng/L vs 82.09 ng/L ± 5.33 ng/L)和CGRP(155.09 ng/L ± 4.38 ng/L, 142.02 ng/L ± 2.44 ng/L, 158.25 ng/L ± 4.02 ng/L vs 107.31 ng/L ± 3.96 ng/L)明显升高($P < 0.05$ 或 0.01)。肠组织5-HT(0.74 ± 0.43 , 0.97 ± 0.91 , 0.66 ± 0.29 vs 1.27 ± 0.45)、5-HT₃R(1.01 ± 0.35 , 1.14 ± 0.76 , 1.47 ± 0.65 vs 1.61 ± 0.03)、NK1R(1.07 ± 0.58 , 0.98 ± 0.67 , 0.88 ± 0.79 vs 1.47 ± 0.94)和ICAM-1(0.81 ± 0.55 , 0.96 ± 0.19 , 0.72 ± 0.93 vs 1.33 ± 0.26) mRNA表达水平下调($P < 0.05$ 或 0.01),尤以金荞麦片高剂量组为优。

结论: 金荞麦片可降低IRS-D大鼠内脏高敏感性,有效抑制免疫炎症反应,多靶点、多层次地参与调节胃肠动力。金荞麦片对实验性IRS-D具有量效依赖作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 金荞麦片; 肠易激综合征; 免疫炎症; 内脏高敏感性

核心提示: 金荞麦片能够通过调节血浆肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)、白介素-17(interleukin 17, IL-17)、IL-10、P物质(substance P)和降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide)含量以及5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟色胺₃受体(5-hydroxytryptamine 3 receptor, 5-HT₃R)、神经激肽受体-1(neurokinin receptor 1)和细胞间黏附分子(intracellular adhesion molecule-1)mRNA表达水平,进而对肠易激综合征腹泄型(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome)大鼠的免疫炎症反应和内脏高敏感性

起到一定的抑制作用, 这可能是金荞麦片治疗IBS的作用环节和靶点之一。

牛晓玲, 周英豪, 孙书焰, 庄璘. 金荞麦片对脾虚湿热证腹泻型肠易激综合征大鼠免疫炎症和内脏高敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3543-3549 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3543.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3543>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是复杂的胃肠功能紊乱性疾病, 患者多表现与排便或排便习惯改变相关的腹痛或不适, 伴有排便紊乱的特点. IBS的发病率逐年增高, 已成为全球胃肠功能性疾病, 是仅次于上呼吸道感染的第二大常见病. 肠易激综合征腹泻型(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)占到IBS的1/3, 全球五大洲约12%的人口受到IBS-D的困扰. 虽然已有各种针对IBS的药物和非药物治疗方法, 但仍有大量患者的症状未得到缓解, 严重影响了患者的生活质量, 且社会和经济成本高^[1-3]. 本研究观察了金荞麦片对脾虚湿热证IBS-D大鼠的免疫炎症反应和内脏高敏感性的影响, 探讨金荞麦片治疗IBS的作用环节和靶点, 为寻找具有我国知识产权治疗IBS的中药新制剂开辟新途径.

1 材料和方法

1.1 材料 出生2 wk的SPF级SD大鼠112只, 雌雄不限, 体质量6-8 g, 由上海医科大学实验动物中心提供. 金荞麦片(1.5 g生药/片, 南通精华制药有限公司, 批号: 121103), 研成细粉, 溶于生理盐水中灌胃给药; 谷参肠安胶囊(地奥集团成都药业股份有限公司, 批号: 121018), 取胶囊内容物, 溶于生理盐水中灌胃给药; 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)放射免疫试剂盒(天津九鼎医学生物工程有限公司); 白介素-7(interleukin 17, IL-17)放射免疫试剂盒(天津九鼎医学生物工程有限公司); IL-10放射免疫试剂盒(天津九鼎医学生物工程有限公司); P物质(substance P, SP)放射免疫试剂盒(南京建成生物工程研究所); 降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)放射免疫试剂盒(南京建成生物工程研究所); GC-911 γ 放射免疫计数器(科大创新股份有限公司); 冰乙酸(分析纯, 上海圣亚化工有限公司); RT-PCR两步法试剂盒、TakaRa ExTaq DNA聚合酶, PCR扩增用引物(上海生工生物工

程公司); 8 F导尿管, 导管直径2 mm, 球囊最大容量3 mL, 最大直径2 cm, 用作直肠内球囊扩张导管, 由浙江康康医疗器械有限公司生产.

1.2 方法

1.2.1 模型制备: 将出生2 wk的SPF级SD大鼠112只随机分为对照组(32只)和模型组(80只), 模型组乳大鼠每5只与哺乳鼠一同饲养, 每日与母鼠分离180 min, 直至出生后第14天, 第3周将与母鼠分离的幼鼠每5只一笼, 以高脂高糖饲料喂养(普通饲料混入12%猪油、8%蜂蜜), 灌服大黄水煎液2.0 mL/(kg·d), 1次/d; 对照组以普通混合饲料喂养, 灌服等量生理盐水, 1次/d, 持续1 wk停; 第4周模型组每天上午9:00以直肠内气囊扩张, 导管经肛门插入约2 cm, 注入气体1.0 mL, 持续2 min, 1次/d, 放气退出导管, 置入温度32℃ \pm 2℃、相对湿度90%-95%的湿热环境中, 1 h/次, 2次/d; 对照组肛门内插入气囊导管, 但不扩张, 2 min后拔出导管, 1次/d; 仍在温度20℃-28℃, 相对湿度50%-70%的正常环境中, 持续1 wk停; 第5周每天上午9:00模型组大鼠夹尾刺激10 min(用尖端包裹纱布的止血钳夹住大鼠尾巴), 然后用30%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 用宽纸带束缚其肩部、前肢及胸部, 限制大鼠用前肢搔抓头面部, 但不限制其活动, 自大鼠清醒后开始计时, 束缚时间为1 h, 30 min后给直结肠内醋酸刺激, 将经甘油润滑的连续硬膜外导管(直径约1 mm)经肛门插入约2 cm, 注入0.5%醋酸0.5 mL, 30 s后注入0.9%生理盐水1.0 mL冲洗; 对照组大鼠每天直结肠内注入0.9%生理盐水0.5 mL, 连续2 wk. 造模同时观察大鼠的一般情况(饮食、二便、体质量、形态、皮毛和精神状态等)并做记录, 第7周停止造模. 第6周末检测大鼠的结肠转运和感觉功能.

1.2.2 动物分组及给药: 将造模成功大鼠随机分为正常对照组(A组)、模型对照组(B组)、金荞麦片高、中、低剂量组(C、D、E组)、谷参肠安组(F组), 每组12只, 共6组. 谷参肠安组给药浓度为2 g/kg, 金荞麦片低、中、高剂量组给药浓度分别为1.5、3.0、6.0 g生药/kg, 均以10 mL/kg体质量灌胃给药. 正常对照组和模型对照组给予等容积生理盐水. 均1次/d, 每日上午8:00开始, 共4 wk.

1.2.3 结肠转运功能测定: 大鼠实验前24 h禁食, 予30%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉, 取直径为3 mm的玻璃小球沿肛门放入距肛门3 cm的直肠内. 大鼠苏醒后迅速移至笼内喂食饮水, 笼内垫清洁滤纸. 观察束缚2 h内大鼠排便的粪点

■ 相关报道

有研究报道, 肠吉泰能通过降低肠道组织神经生长因子含量来降低内脏敏感性.

■创新盘点

金荞麦片治疗IBS的主要药效学实验。拟阐明其对IBS是否具有调节免疫炎症反应、降低内脏高敏感性和维持肠黏膜结构完整性的作用。

表 1 高乳糖饲料+慢性束缚+夹尾刺激对大鼠结肠转运功能的影响 (mean ± SD)

	第14天			第28天		
	<i>n</i>	大鼠粪点数	玻璃小球排出时间(min)	<i>n</i>	大鼠粪点数	玻璃小球排出时(min)
正常组	32	3.24 ± 1.75	23.09 ± 1.52	32	4.01 ± 0.25	23.18 ± 1.22
模型组	80	4.97 ± 2.08 ^b	15.30 ± 3.75 ^b	80	4.89 ± 0.37 ^b	17.30 ± 1.98 ^b

^b*P* < 0.01 vs 正常组。

数和直肠内玻璃小球排出时间并进行比较。实验第14天、第28天、给药结束后第2天分别检测以验证模型有效性及观察金荞麦片的干预作用。

1.2.4 内脏敏感性评估: 于造模结束及给药结束后第2天分别评估球囊结直肠扩张引起腹部收缩反射(abdominal withdrawal reffer, AWR)的最小容量阈值以反映其内脏敏感性。大鼠水合氯醛麻醉下, 将石蜡油润滑后的导尿管经肛门插入, 球囊末端距离肛门1 cm, 用胶布把导管和大鼠尾巴根部缠在一起, 固定气囊。大鼠苏醒后, 放在特制的透明塑料笼(18 cm×5 cm×7cm)中, 大鼠在笼中只能前后运动, 不能转身。30 min适应期后经导尿管外口向球囊内注入26 °C-28 °C生理盐水扩张肠道, 记录引起大鼠腹部收缩反射的最小注水量, 即最小容量阈值。重复扩张3次, 每次扩张间隔30 min, 数据取均值。

1.2.5 TNF-α、IL-17、IL-10、SP及CGRP含量测定: 给药结束后第2天, 各组大鼠10%水合氯醛腹腔麻醉后取静脉血5 mL, 分离血清, 置-20 °C保存待检。TNF-α、IL-17、IL-10、SP及CGRP均采用放射免疫法检测。操作均按试剂盒说明进行。

1.2.6 小肠运动功能评估: 脱颈椎处死后, 取小肠检测小肠运动功能。各组随机取5只大鼠, 以50%墨汁灌胃(2 mL/只), 10 min后处死大鼠, 剖取大鼠小肠, 分别测量小肠墨汁推进百分率。推进率(%) = 幽门至墨汁前沿的距离/幽门至回盲部的距离×100%。

1.2.7 肠组织5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟色胺3受体(5-hydroxytryptamine 3 receptor, 5-HT3R)、神经激肽受体-1(neurokinin receptor 1, NK1R)和细胞间黏附分子(intracellular adhesion molecule-1, ICAM-1)mRNA表达水平测定: 大鼠处死后, 取出大肠组织, 采用液氮快速冷冻并置-70 °C冰箱中保存待测。RT-PCR检测5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA的表达: 从GenBank查取5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1基因序列, 以Primer5软件设计引

物各一对, 5-HT: 上游: 5'-AGACCCTATCAG-GTGGACGTT-3', 下游: 5'-GGAGGTATACG-CAGATGCT-3', 片段大小172 bp; 5-HT3R: 上游: 5'-GCAGACATACGCTTTCCC-3', 下游: 5'-ATAGCCCACCAGCACATT-3', 片段大小340 bp; NK1R: 上游: 5'-ACCAACACCTCT-GAGTCTAA-3', 下游: 5'-TGGTCACTGTCCT-CATTCT-3', 片段大小174 bp。内参GAPDH: 上游: 5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3', 下游: 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3', 片段大小252 bp; ICAM-1: 上游: 5'-TCGGAGGATCA-CAAACGAAGC-3', 下游: 5'-AACATAAGAG-GCTGCCATCACG-3', 片段大小462 bp。上述引物均由上海生工生物技术有限公司合成。采用TRIzol法提取肠组织总RNA。按两步法RT-PCR试剂盒操作说明逆转录cDNA, 并进行荧光定量PCR扩增。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行处理, 计量数据以mean±SD表示, 计数资料采用 χ^2 检验, 组间差异的比较采用单因素方差分析, 显著性水准为 $\alpha = 0.05$ 。*P* < 0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠结肠转运功能比较 高乳糖饲料+慢性束缚+夹尾刺激可使模型组大鼠结肠转运功能增强, 较正常组排便量明显增多, 直肠内玻璃小球排出时间明显缩短(表1)。给药后, 各治疗组结肠转运功能较模型组均有显著性差异(表2)。

2.2 大鼠内脏敏感性比较 造模结束后检测大鼠内脏敏感性, 模型组大鼠球囊结直肠扩张引起腹部收缩反射的最小容量阈值(0.34 mL±0.21 mL)较正常组(0.72 mL±0.19 mL)明显降低, 差异有显著性(*P* < 0.01), 证明内脏高敏感模型复制成功。而给药结束后检测, 模型组大鼠球囊结直肠扩张引起腹部收缩反射的最小容量阈值(0.38 mL±0.21 mL)较正常组(0.69 mL±0.05 mL)明显降低, 差异有显著性(*P* < 0.01), 各治疗组引起腹部

表 2 各组大鼠结肠转运功能比较 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	大鼠粪点数	玻璃小球排出时(min)
A组	3.45 \pm 2.93	23.71 \pm 2.06
B组	4.52 \pm 1.07 ^b	16.33 \pm 1.05 ^b
C组	3.58 \pm 0.54 ^d	21.06 \pm 1.87 ^c
D组	3.87 \pm 0.22 ^c	19.42 \pm 2.44 ^c
E组	4.03 \pm 0.66 ^c	18.21 \pm 3.15
F组	3.69 \pm 0.91 ^c	20.09 \pm 3.27 ^c

^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs B组. A组: 正常对照组; B组: 模型对照组; C组: 金荞麦片高; D组: 中剂量组; E组: 低剂量组; F组: 谷参肠安组.

收缩反射的最小容量阈值(C组: 0.55 mL \pm 0.07 mL, D组: 0.53 mL \pm 0.11 mL, E组: 0.46 mL \pm 0.05 mL, F组: 0.49 mL \pm 0.09 mL)均较模型组(0.38 mL \pm 0.21 mL)升高($P < 0.05$), 说明各治疗组肠道高敏感性显著降低.

2.3 大鼠血清TNF- α 、IL-17、IL-10、SP及CGRP含量比较 模型组大鼠血清TNF- α 、IL-17及SP含量较正常组明显增高($P < 0.01$), IL-10和CGRP明显降低($P < 0.01$), 而各治疗组大鼠血清TNF- α 、IL-17及SP含量均较模型组降低, IL-10和CGRP明显升高($P < 0.05$ 或 0.01)(表3).

2.4 大鼠小肠运动功能比较 模型组大鼠小肠墨汁推进百分率(89.34% \pm 6.67%)较正常组(72.08% \pm 4.49%)显著升高($P < 0.01$), 给药后, 各治疗组小肠墨汁推进百分率(C组: 75.21% \pm 4.21%, D组: 80.12% \pm 5.19%, E组: 82.05% \pm 3.27%, F组: 77.33% \pm 6.01%)均较模型组(89.34% \pm 6.67%)降低($P < 0.05$ 或 0.01), 且以金荞麦片高剂量组差异最为明显($P < 0.01$).

2.5 肠组织5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA比较 模型组大鼠血清5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA表达水平较正常组明显上调($P < 0.01$), 而各治疗组大鼠血清5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA均较模型组下调($P < 0.05$)(表4).

3 讨论

IBS是由腹部疼痛不适同时伴有排便习惯改变为特征的一组肠功能紊乱综合征, 缺乏明显的器质性改变. 依据粪便性状可分为便秘型、腹泻型、混合型和不定型, 其致病因素和发病机制尚未完全明确^[4-6]. 目前认为多个因素参与其发病, 如遗传因素、生活方式、精神心理因素、肠道运行和感觉功能, 这些都与“脑-肠”

轴功能密切相关^[7]. 神经-免疫-内分泌网络失调是目前对IBS发病机制较全面的认识^[8]. IBS的病理生理学改变主要表现为胃肠道动力异常、内脏高敏感性和神经内分泌调节紊乱^[9]. 近年来, 已有报道, 肠道黏膜低度炎症和免疫激活是IBS新的病理生理学特征, 特别是随着感染后肠易激综合征发病机制的研究, 越来越多的证据表明, 黏膜免疫激活是IBS发病的重要机制. 感染、精神心理应激及肠道菌群紊乱是导致黏膜免疫活化的重要原因, 寻找可能的与免疫相关的生物学靶点是提高对IBS诊断和治疗水平的潜在方向^[10-12]. 多种细胞因子和多肽类分子, 如TNF- α 、IL-17、IL-10、ICAM-1、SP及CGRP等作为炎症因子和神经传递、调节介质, 是免疫炎症反应网络中的重要成分, 可通过参与炎症反应和调节免疫功能、调节细胞生长分化、诱导炎症反应发生, 参与多种生理病理过程, 他们在胃肠道及脑中的改变影响了神经-免疫-内分泌网络的调节功能, 使“脑-肠”轴紊乱, 从而导致胃肠动力异常, 内脏高敏感性等改变. 同时, 这些细胞因子也对胃肠道的分泌和运动起极其重要的调节作用^[13-19]. IBS患者肠动力反应过强、感觉阈值降低以及心理障碍或精神异常表现与5-HT浓度较高有关. 5-HT作用于不同的受体会有不同的表现, 其中与IBS发病机制关系最为密切的是5-HT3受体和5-HT4受体. 5-HT广泛分布于整个胃肠道, 与胃肠道功能紊乱密切相关. 激活5-HT3受体增加钠的通透性, 直接兴奋I级感觉神经元, 其活化可致乙酰胆碱和P物质的释放, 后者能促进胃肠道收缩. 5-HT是一种广泛存在于中枢神经系统和胃肠道的神经递质, 也是一种免疫调节因子, 是神经内分泌免疫网络中的重要一员^[20]. SP诱导炎症主要是通过NK1R所调节的, NK1R主要存在于结肠和回肠的肌间神经丛及黏膜下神经丛, 胃较少. 无论是体内还是体外, 免疫及非免疫细胞上NK1R被激活后都有一种广泛的前炎症反应^[21].

本研究采用高乳糖饲料+慢性束缚+夹尾刺激诱导IBS-D大鼠模型, 并在造模成功后采用金荞麦片进行治疗, 后行直肠内球囊扩张实验(colorectal distention, CRD), 观察腹肌收缩反射, 评估了大鼠结肠转运和感觉功能, 放射免疫法检测了血清TNF- α 、IL-17、IL-10、SP和CGRP含量, 荧光定量PCR检测了肠组织5-HT、5-HT3R、NK1R和ICAM-1 mRNA表达水平. 结果显示, 与正常对照组相比, 模型组大鼠结肠

■名词解释

直肠内球囊扩张实验(colorectal distention, CRD): 是对直肠排便功能的一项辅助检查, 临床多用于鉴别出口处阻塞和排便失禁, 对判断盆底肌、外括约肌反常收缩及直肠感觉功能下降有重要意义.

■同行评价

本文的研究结果对临床工作具有较为重要的指导作用。

表 3 各组大鼠血清TNF- α 、IL-17、IL-10、SP及CGRP含量比较 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	TNF- α (ng/L)	IL-17(ng/L)	IL-10(ng/L)	SP(pg/mL)	CGRP(ng/L)
A组	2.45 \pm 0.51	1.93 \pm 0.14	155.96 \pm 7.12	36.57 \pm 3.01	160.33 \pm 4.18
B组	3.77 \pm 0.44 ^b	2.47 \pm 0.33 ^b	82.09 \pm 5.33 ^b	43.19 \pm 4.28 ^b	107.31 \pm 3.96 ^b
C组	2.76 \pm 0.31 ^d	2.01 \pm 0.76	137.25 \pm 6.2 ^d	38.22 \pm 3.15 ^d	155.09 \pm 4.38 ^d
D组	2.85 \pm 0.62 ^c	2.14 \pm 0.29	128.55 \pm 6.3 ^c	40.61 \pm 2.71 ^d	142.02 \pm 2.44 ^d
E组	2.91 \pm 0.77 ^c	2.30 \pm 0.77	121.70 \pm 5.11 ^c	42.01 \pm 3.79 ^d	136.21 \pm 4.55 ^c
F组	2.81 \pm 0.67 ^c	1.98 \pm 0.11	135.90 \pm 4.4 ^d	37.55 \pm 2.63 ^d	158.25 \pm 4.02 ^d

^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs B组. A组: 正常对照组; B组: 模型对照组; C组: 金荞麦片高; D组: 中剂量组; E组: 低剂量组; F组: 谷参肠安组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL: 白介素; SP: P物质; CGRP: 降钙素基因相关肽.

表 4 各组大鼠5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA比较 (mean \pm SD)

分组	5-HT	5-HT3R	NK1R	ICAM-1
A组	0.41 \pm 0.05	0.89 \pm 0.07	0.60 \pm 0.08	0.56 \pm 0.04
B组	1.27 \pm 0.45 ^b	1.61 \pm 0.03 ^b	1.47 \pm 0.94 ^b	1.33 \pm 0.26 ^b
C组	0.74 \pm 0.43 ^d	1.01 \pm 0.35	0.88 \pm 0.79 ^d	0.81 \pm 0.55 ^d
D组	0.97 \pm 0.91 ^c	1.19 \pm 0.46 ^c	1.07 \pm 0.58 ^c	0.96 \pm 0.19 ^c
E组	1.01 \pm 0.83	1.47 \pm 0.65	1.20 \pm 0.31	1.05 \pm 0.69 ^c
F组	0.66 \pm 0.29 ^d	1.14 \pm 0.76 ^c	0.98 \pm 0.67 ^d	0.72 \pm 0.93 ^d

^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs B组. A组: 正常对照组; B组: 模型对照组; C组: 金荞麦片高; D组: 中剂量组; E组: 低剂量组; F组: 谷参肠安组. 5-HT: 肠组织5-羟色胺; 5-HT3R: 5-羟色胺3受体; NK1R: 神经激肽受体-1; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1.

转运功能增强,较正常组排便量明显增多,直肠内玻璃小球排出时间明显缩短,而经过治疗后,这些变化都得到一定程度的逆转.模型组大鼠球囊结直肠扩张引起腹部收缩反射的最小容量阈值较正常组明显降低,差异有显著性($P < 0.01$),而各治疗组引起腹部收缩反射的最小容量阈值均较模型组升高($P < 0.05$).模型组大鼠血清TNF- α 、IL-17及SP含量较正常组明显增高($P < 0.01$),IL-10和CGRP明显降低($P < 0.01$),而各治疗组大鼠血清TNF- α 、IL-17及SP含量均较模型组降低,IL-10和CGRP明显升高($P < 0.05$ 或0.01).荧光定量PCR结果显示,模型组大鼠血清5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA表达水平较正常组明显上调($P < 0.01$),而各治疗组大鼠血清5-HT、5-HT3R、NK1R及ICAM-1 mRNA均较模型组下调($P < 0.05$).

肠易激综合征属于祖国医学的“泄泻”、“便秘”范畴,与“大肠泄”、“气秘”、“痛泄”关系最为密切,与“郁证”也有一定联系.金荞麦片由天然植物药金荞麦提取而成.金荞麦性平,味微苦,归肺、胃、脾经,现代药理研究发现其有效成分为双聚原矢车菊苷元,

对炎症组织修复确切,对免疫系统作用部位具体,故有提高人体免疫力的作用.本研究表明,TNF- α 、IL-17、IL-10、ICAM-1等炎症细胞因子以及5-HT、SP、CGRP及其相关受体均作为炎症因子、神经传递和调节介质,参与了IBS的生理病理过程,而金荞麦片能够通过调节血浆TNF- α 、IL-17、IL-10、SP和CGRP含量以及5-HT、5-HT3R、NK1R和ICAM-1 mRNA表达水平,进而对IBS-D大鼠的免疫炎症反应和内脏高敏感性起到一定的抑制作用,这可能是金荞麦片治疗IBS的作用环节和靶点之一.

4 参考文献

- 1 Camilleri M. Current and future pharmacological treatments for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14: 1151-1160 [PMID: 23621801 DOI: 10.1517/14656566.2013.794223]
- 2 Pajak R, Lackner J, Kamboj SK. A systematic review of minimal-contact psychological treatments for symptom management in irritable bowel syndrome. *J Psychosom Res* 2013; 75: 103-112 [PMID: 23915765 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2013.05.007]
- 3 Halland M, Talley NJ. New treatments for IBS. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 13-23 [PMID: 23147658 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.207]

- 4 Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811 [PMID: 11076879 DOI: 10.1136/gut.47.6.804]
- 5 Quigley EM. Probiotics in irritable bowel syndrome: an immunomodulatory strategy? *J Am Coll Nutr* 2007; 26: 684S-690S [PMID: 18187434 DOI: 10.1080/07315724.2007.10719648]
- 6 De Ponti F. Drug development for the irritable bowel syndrome: current challenges and future perspectives. *Front Pharmacol* 2013; 4: 7 [PMID: 23378837 DOI: 10.3389/fphar.2013.00007]
- 7 Atay O. Update in adolescent gastroenterology. *Adolesc Med State Art Rev* 2013; 24: 264-272, xiv-xv [PMID: 23705529]
- 8 Dang J, Ardila-Hani A, Amichai MM, Chua K, Pimentel M. Systematic review of diagnostic criteria for IBS demonstrates poor validity and utilization of Rome III. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 853-e397 [PMID: 22632582 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01943.x]
- 9 Surdea-Blaga T, Băban A, Dumitrascu DL. Psychosocial determinants of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 616-626 [PMID: 22363132 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.616]
- 10 Jovani M, Fiorino G, Danese S. Commentary: associations between immune activation, intestinal permeability and irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 277-278 [PMID: 23252779 DOI: 10.1111/apt.12136]
- 11 Ishihara S, Tada Y, Fukuba N, Oka A, Kusunoki R, Mishima Y, Oshima N, Moriyama I, Yuki T, Kawashima K, Kinoshita Y. Pathogenesis of irritable bowel syndrome--review regarding associated infection and immune activation. *Digestion* 2013; 87: 204-211 [PMID: 23712295 DOI: 10.1159/000350054]
- 12 Fukudo S, Kuwano H, Miwa H. Management and pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *Digestion* 2012; 85: 85-89 [PMID: 22269284 DOI: 10.1159/000334652]
- 13 Bashashati M, Rezaei N, Bashashati H, Shafieyoun A, Daryani NE, Sharkey KA, Storr M. Cytokine gene polymorphisms are associated with irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 1102-e566 [PMID: 22897390 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01990.x]
- 14 Ohman L, Simrén M. Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 163-173 [PMID: 20101257 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.4]
- 15 El-Salhy M. Irritable bowel syndrome: diagnosis and pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5151-5163 [PMID: 23066308]
- 16 Elsenbruch S. Abdominal pain in Irritable Bowel Syndrome: a review of putative psychological, neural and neuro-immune mechanisms. *Brain Behav Immun* 2011; 25: 386-394 [PMID: 21094682 DOI: 10.1016/j.bbi.2010.11.010]
- 17 Matricon J, Meleine M, Gelot A, Piche T, Dapoigny M, Muller E, Ardid D. Review article: Associations between immune activation, intestinal permeability and the irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1009-1031 [PMID: 23066886 DOI: 10.1111/apt.12080]
- 18 Ford AC, Talley NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: a systematic review. *J Gastroenterol* 2011; 46: 421-431 [PMID: 21331765 DOI: 10.1007/s00535-011-0379-9]
- 19 Spiller R, Lam C. An Update on Post-infectious Irritable Bowel Syndrome: Role of Genetics, Immune Activation, Serotonin and Altered Microbiome. *J Neurogastroenterol Motil* 2012; 18: 258-268 [PMID: 22837873 DOI: 10.5056/jnm.2012.18.3.258]
- 20 康明祥, 贾红. 肠易激综合征内脏高敏感性机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2004; 16: 1554-1558
- 21 Anastasi JK, Capili B, Chang M. Managing irritable bowel syndrome. *Am J Nurs* 2013; 113: 42-52; quiz 54, 53 [PMID: 23764698]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



三维多普勒超声评价食管静脉曲张套扎术对胃左静脉血流动力学的影响

崔星亮, 路新卿, 王建华, 刘晓东, 施海法, 燕霞, 王瑞平

■背景资料

食管静脉曲张破裂出血是一种威胁肝硬化患者生命安全的严重并发症, 据统计全国每年约有5%-15%肝硬化患者发生食管静脉曲张破裂出血。内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)目前已成为食管静脉曲张的首选治疗方法, 胃左静脉(the left gastric vein, LGV)是门静脉系统一重要分支, 食管静脉之所以破裂出血与其内血流动力学的变化是分不开的。使用三维超声多普勒测量LGV血流动力学改变对于预测治疗后出血的危险性及治疗效果的评价具有重要的临床意义。

崔星亮, 路新卿, 王建华, 刘晓东, 施海法, 燕霞, 王瑞平, 河北工程大学附属医院消化内科 河北省邯郸市 056029
崔星亮, 硕士生, 主治医师, 主要从事肝硬化上消化道出血的规范化治疗方面的研究。

邯郸市科学技术局研究基金资助项目, No. 1223108089-10
作者贡献分布: 此课题由崔星亮与路新卿设计; 超声检查由施海法与燕霞完成; 静脉曲张套扎由刘晓东与王建华操作完成; 数据统计分析由王瑞平完成; 论文写作由崔星亮完成。

通讯作者: 路新卿, 副主任医师, 056029, 河北省邯郸市丛台区81号, 河北工程大学附属医院消化内科。

cuixingliang781002@qq.com

电话: 0310-8572136

收稿日期: 2013-07-04 修回日期: 2013-07-29

接受日期: 2013-10-18 在线出版日期: 2013-11-18

Three-dimensional Doppler ultrasonographic evaluation of hemodynamic changes in the left gastric vein of patients after esophageal variceal ligation

Xing-Liang Cui, Xin-Qing Lu, Jian-Hua Wang, Xiao-Dong Liu, Hai-Fa Shi, Xia Yan, Rui-Ping Wang

Xing-Liang Cui, Xin-Qing Lu, Jian-Hua Wang, Xiao-Dong Liu, Hai-Fa Shi, Xia Yan, Rui-Ping Wang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056029, Hebei Province, China

Supported by: the Handan Municipal Science and Technology Bureau Research Fund, No. 1223108089-10

Correspondence to: Xin-Qing Lu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, 81 Congtai Road, Handan 056029, Hebei Province, China. cuixingliang781002@qq.com

Received: 2013-07-04 Revised: 2013-07-29

Accepted: 2013-10-18 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To determine the hemodynamic effects of endoscopic variceal band ligation (EVL) on the left gastric vein (LGV) using three-dimensional Doppler ultrasonography (TD-DUS).

METHODS: One hundred and ten patients with pathologically confirmed cirrhosis, portal hypertension and esophageal varices who underwent esophageal variceal ligation at our hospital from

January 2009 to December 2012 were divided into either a non-hemorrhage group ($n = 50$) or a hemorrhage group ($n = 60$). TD-DUS measurements of hemodynamic indexes of the LGV including vein diameter, mean blood flow velocity, blood flow and blood flow were performed.

RESULTS: Before and after EBL, LGV diameter, mean flow velocity, and blood flow were significantly higher in the hemorrhage group than in the non-hemorrhage group ($t = 3.2, 2.8; 4.7, 6.0; 3.6, 3.8$, all $P < 0.01$). After EVL treatment, hemodynamic indexes were significantly reduced in both groups. The direction of blood flow of the left gastric vein to the liver (4.55% vs 70.91%), from the liver (87.27% vs 19.09%), and bidirectional blood flow (8.18% vs 10%) differed significantly between before and after treatment. There was also a significant difference between the two groups ($\chi^2 = 16.82, P < 0.01$).

CONCLUSION: EVL can reduce hemodynamic indexes (LGV diameter, mean blood flow velocity and blood flow) of the LGV.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal varices; Endoscopic variceal ligation; Three-dimensional ultrasonography; Doppler ultrasonography; Left gastric vein

Cui XL, Lu XQ, Wang JH, Liu XD, Shi HF, Yan X, Wang RP. Three-dimensional Doppler ultrasonographic evaluation of hemodynamic changes in the left gastric vein of patients after esophageal variceal ligation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3550-3555 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3550.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3550>

摘要

目的: 使用三维多普勒超声测量食管静脉曲张套扎术治疗前后胃左静脉(the left gastric vein, LGV)血流动力学指标, 确定内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)对血流动力学的影响。

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

方法: 选择2009-01/2012-12在我院住院且经临床、病理、影像学、生化、内镜检查确诊的肝硬化门脉高压症合并食管静脉曲张患者110例进行食管静脉曲张套扎治疗, 分为未出血组(50例)和出血组(60例), 使用三维多普勒超声测量食管静脉曲张套扎术治疗前后血流动力学指标, 包括静脉直径、平均血流速度、血流量以及血流方向。

结果: EVL前后出血组LGV血流动力学(LGV的直径, 平均血流速度, 血流量)均高于未出血组, 具有显著统计差异(t 值分别为3.2、2.8; 4.7、6.0; 3.6、3.8, $P < 0.01$)。EVL治疗后, 出血组和未出血组血流动力学指标均明显降低, 治疗前胃左静脉的血流方向向肝血流占4.55%, 离肝血流为87.27%, 双向血流占8.18%, 而治疗后向肝血流占70.91%, 离肝血流19.09%, 双向血流占10.00%, 两组之间比较差异显著($\chi^2 = 16.82$, $P < 0.01$)。

结论: 三维多普勒超声测量结果显示: EVL显著降低胃LGV血流动力学指标(LGV的直径、平均血流速度和血流量), 可导致胃左静脉血流方向改变。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管静脉曲张; 内镜下曲张静脉套扎术; 三维多普勒超声; 胃左静脉

核心提示: 本文选择110例患者进行内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)治疗, 使用三维多普勒超声测量EVL治疗前后血流动力学指标, 观察内镜下EVL对胃左静脉(the left gastric vein, LGV)血流动力学的影响, 结果提示EVL显著降低LGV血流动力学指标, 并可导致LGV血流方向改变。三维超声多普勒是一种新的成像方法, 使用三维超声多普勒测量LGV血流动力学改变对于预测治疗后出血的危险性及治疗效果的评价具有重要的临床意义。

崔星亮, 路新卿, 王建华, 刘晓东, 施海法, 燕霞, 王瑞平. 三维多普勒超声评价食管静脉曲张套扎术对胃左静脉血流动力学的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3550-3555 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3550.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3550>

0 引言

目前, 内镜套扎术是治疗食管静脉曲张的有效方法之一, 具有止血快、静脉曲张消失迅速, 并发症少等优势, 且成本相对较低, 已成为食管静脉曲张的首选治疗方法^[1]。门脉系统血流动力学

变化是影响食管静脉曲张的发展最重要的因素, 也是影响内镜治疗后静脉曲张复发的重要因素。预测出血及复发方面胃左静脉(the left gastric vein, LGV)血流动力学改变优于门静脉, 因此, 测定LGV血流动力学改变对于预测治疗后出血的危险性及治疗效果的评价具有重要意义^[2,3]。本研究的目的是使用内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)治疗前后LGV, 观察EVL对血流动力学的影响及EVL的治疗效果评估。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究是一项随机双盲前瞻性对照研究, 选择2009-01/2012-12在我院住院且经临床、病理、影像学、生化、内镜检查确诊的肝硬化、门脉高压症合并食管静脉曲张患者110例进行食管静脉曲张套扎治疗, 以上患者均符合食管静脉曲张套扎条件(合并消化系出血的食管静脉曲张或伴有红色征的高危未出血食道静脉曲张)。排除标准: (1)有套扎术/硬化剂注射治疗史, 有分流或断流手术史; (2)急性肝性脑病, 或怀疑有恶性肿瘤; (3)服用 β -受体阻滞剂等影响血流动力学药物者; (4)门脉系统有血栓者; (5)伴有心、脑、肾以及糖尿病者。病情程度: 按照Child-pugh分级标准, Child A级28例, Child B级37例, Child C级45例。

1.2 方法

1.2.1 分组: 110例患者分为出血组和非出血组, 出血组为检查前3 mo内有反复呕血或黑便史, 并经胃镜证实为食管静脉曲张III级或IV级, 而非其他胃及十二指肠出血疾病的患者。未出血组为检查前3 mo内无消化系出血, 胃镜表现为食管静脉曲张III级或IV级, 以及静脉曲张即将破裂的迹象(红色征)。

1.2.2 研究工具: 所有研究的患者进行以下: (1)完整的临床评估和实验室研究; (2)根据Child-Pugh分级评分系统对所有患者进行评分; (3)应用具有三维和彩色多普勒血流显像功能超声(美国产Voluson 730 Pro V超声仪, 探头频率为3.5-5.0 MHz, 具有3D多平面显示技术)。在套扎前1 d和套扎后14 d分别检测LGV直径(cm)、LGV血流速度(cm/s)、LGV血流量、LGV充血指数以及血流方向。血流量计算公式 $Q = V_{mean} \times (D/2)^2 \times \pi \times 60$; 充血指数(congestive index, CI)计算公式 $CI = \pi \times (D/2)^2 / V$; 注: D(血管截面直径); V(血管截面的血流速度)。LGV血流方向分

■ 研究前沿

食管静脉曲张破裂出血是引起肝硬化患者死亡的主要原因之一, 准确预测食管静脉曲张破裂出血的危险性, 对于选择合理的治疗方式预防出血, 改善疗效及判断预后极为重要, 胃镜下食管静脉曲张的形态记分法是预测出血的重要指标, 但反复内镜检查有诱发出血的可能。三维超声多普勒是一种新的成像方法, 具有广泛的应用前景, 在对门静脉高压症评估的重要性以及实用性方面正在逐步推广, 但用来准确预测食管静脉曲张破裂出血的超声指标目前尚无一致结论。

■创新盘点

本文应用三维超声多普勒测量EVL治疗前后LGV的血流动力学变化,观察EVL对血流动力学的影响,用于静脉曲张出血风险的评估和预测,有助于术者选择合适的时间对食管静脉曲张患者进行预防性套扎,从而让患者获得最佳利益。

表 1 两组之间一般情况比较

分组	未出血组	出血组	$t(\chi^2)$	P值
<i>n</i>	50	60		
性别(男/女)	28/22	36/24	0.3	0.15
年龄(岁)	50.2 ± 12.8	56.8 ± 7.6	0.1	0.03
肝硬化的病因				
病毒	32	39	1.7	0.58
酒精	8	12	0.3	0.32
其他	10	9	1.5	0.41
Child-Pugh评分				
A	26	2	1.2	<0.01
B	16	21		
C	8	37		

表 2 EVL治疗前后肝功能Child分级之间LGV血液动力学比较

分组	Child A	Child B	Child C	值	P值
<i>n</i>	28	37	45		
LGV直径(cm)					
治疗前	0.52 ± 0.13	0.60 ± 0.14	0.76 ± 0.18	2.1	<0.05
治疗后	0.50 ± 0.13	0.51 ± 0.14	0.36 ± 0.18	3.4	<0.01
平均血流速度(cm/s)					
治疗前	13.8 ± 1.7	17.7 ± 2.0	23.7 ± 2.3	3.3	<0.01
治疗后	13.9 ± 1.5	15.3 ± 2.4	19.6 ± 2.7	4.1	<0.01
血流量(mL/min)					
治疗前	321 ± 112	402 ± 151	625 ± 172	2.3	<0.05
治疗后	238 ± 117	332 ± 112	460 ± 215	5.9	<0.01
CI					
治疗前	0.018 ± 0.008	0.037 ± 0.009	0.043 ± 0.011	3.9	<0.01
治疗后	0.028 ± 0.010	0.025 ± 0.004	0.031 ± 0.008	2.3	<0.05

LGV: 胃左静脉; CI: 充血指数。

为离肝血流与向肝血流; (4)电子胃镜选用奥林巴斯V260型电子胃镜; 食管静脉曲张内镜套扎术选用Wison-cook公司的12连发圈套结扎器。

统计学处理 使用SPSS13.0统计软件对所有数据进行分析,各项检测值以mean ± SD表示,两组间计量资料比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组之间一般情况比较 出血组和未出血组两组之间年龄、性别、肝硬化病因比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 而Child分级之间比较差异性显著($P < 0.05$, 表1)。

2.2 肝功能Child分级治疗前后LGV血流动力学比较 术前, LGV血流动力学(直径、平均血流速度、平均血流量、充血指数)与Child分级相平

行, Child A低于Child B, Child B低于Child C, 具有显著统计学差异($P < 0.05$, 表2)。

2.3 出血组与未出血组之间治疗前后胃左静脉血流动力学比较 无论术前或术后出血组与未出血组胃左静脉(直径、平均血流速度、血流量)比较, 出血组较未出血组明显升高, 差异具有显著统计学意义($P < 0.01$)。充血指数差异无明显统计学意义($P > 0.05$, 表3)。

2.4 EVL治疗前后LGV血流动力学比较 EVL治疗后LGV(直径、平均血流速度、血流量)显著减少, 而胃左静脉充血指数显著增加, 差异性显著($P < 0.01$, 表4)。

2.5 EVL治疗前后LGV血流方向变化 治疗前LGV的血流方向向肝血流占4.55%(5/110), 离肝血流为87.27%(96/110), 双向血流占8.18%(9例), 而治疗后向肝血流占70.91%(78/110), 离肝血流

表 3 出血组与未出血组之间治疗前后LGV血流动力学比较

分组	无出血组	出血组	t值	P值
n	50	60		
直径(cm)				
治疗前	0.54 ± 0.13	0.70 ± 0.14	3.2	<0.01
治疗后	0.47 ± 0.12	0.65 ± 0.12	2.8	<0.01
平均血流速度(cm/s)				
治疗前	15.4 ± 1.5	18.3 ± 1.9	4.7	<0.01
治疗后	12.4 ± 0.8	15.1 ± 1.5	6.0	<0.01
血流量(mL/min)				
治疗前	237 ± 106	459 ± 214	3.6	<0.01
治疗后	170 ± 97	420 ± 190	3.8	<0.01
CI				
治疗前	0.015 ± 0.006	0.02 ± 0.006	1.9	>0.05
治疗后	0.029 ± 0.009	0.033 ± 0.008	1.3	>0.05

LGV: 胃左静脉; CI: 充血指数.

表 4 EVL治疗前后LGV血流动力学参数比较

分组	治疗前	治疗后	t值	P值
LGV直径(cm)	0.63 ± 0.16	0.55 ± 0.15	22	<0.01
平均血流速度(cm/s)	16.8 ± 2.3	13.7 ± 1.9	21	<0.01
血流量(mL/min)	348 ± 123	322 ± 130	4.8	<0.01
CI	0.02 ± 0.006	0.03 ± 0.009	19	<0.01

LGV: 胃左静脉; CI: 充血指数.

19.09%(21/110), 双向血流占10.00%(11/110), 两组之间比较经 χ^2 检验, 差异显著($\chi^2 = 16.82, P < 0.01$).

3 讨论

食道静脉曲张破裂出血是肝硬化门脉高压症的严重并发症, 肝硬化伴食道胃底静脉曲张患者有19%-40%最终发生上消化道大出血, 其中40%-70%的患者因首次出血而死亡^[4]. EVL因其设备简单, 操作方便, 疗效确切, 并发症较少, 相对治疗费用低, 目前已成为食管静脉曲张的首选治疗方法^[5,6]. 三维超声多普勒是一种新的成像方法, 在对门静脉高压症评估的重要性以及实用性方面正在逐步推广^[7,8].

在本研究中, 我们观察了LGV血流动力学与Child-Pugh之间的关系, 结果提示Child-Pugh C级患者与Child-Pugh A级和B级比较均明显升高, 具有显著性差异. Kakutani等^[9]运用3D超声研究门体分流术与食管静脉曲张破裂出血风险之间的关系, 发现LGV直径、平均速度、平均血流量、充血指数与肝功能Child-Pugh分级严

重程度密切相关.

LGV是食管静脉曲张的主要血液供应来源, 其血流动力学对于预测静脉曲张破裂出血具有重要意义^[10]. Wang等^[11]研究了130例肝硬化患者后发现, LGV直径>7 mm与门脉高压具有显著相关, 89%重度食管静脉曲张患者LGV>7 mm. 本研究结果显示治疗前出血组与未出血组胃左静脉(直径、平均血流速度和血流量)比较, 出血组较未出血组明显升高, 差异具有显著统计学意义($P < 0.01$), 而充血指数无明显统计学差异. EVL治疗后14 d, 我们观察到LGV直径、平均血流速度和血流量较治疗前明显减小. 因此, LGV直径增宽、高流速和高血流量可能提示食管静脉曲张具有较高的破裂出血风险.

EVL治疗后未出血组与出血组之间LGV直径、平均血流速度、血流量比较差异具有统计学意义, 表明LGV与食管静脉曲张的发展密切相关, 治疗后LGV血流动力学的变化直接影响EVL治疗效果. Ito等^[12]应用超声观测门静脉系统血流动力学变化与术后静脉曲张复发的关系,

■应用要点

EVL目前已成为食管静脉曲张的首选治疗方法, 三维超声多普勒是一种新的成像方法, 目前已在各级医院逐步推广, 将三维超声应用于静脉曲张出血风险的评估和预测, 具有很强的实用性, 是预测静脉曲张复发的重要参数, 是使用非侵入性检查非常有价值的临床指标.

■同行评价

本文选题结合临床, 设计合理, 结论有说服力, 有一定指导意义和参考价值。

发现LGV的血流方向以及LGV的直径的减少是预测静脉曲张复发的重要参数, 是使用非侵入性检查非常有价值的临床指标。

肝硬化门脉高压时, 门脉压力高于LGV, 血流返流入LGV, 当增高的门静脉压力持续存在时, LGV离肝血流流速增大, 可发生食道静脉曲张, 曲张的静脉易受物理性或化学性损伤和黏膜面溃疡糜烂而破裂, 引起急性大出血。因此, LGV血流方向的改变以及离肝血流速度可预测术后出血的风险^[13,14]。我们的研究结果显示, LGV血流方向与治疗前比较, 治疗前LGV的血流方向向肝血流占4.55%, 离肝血流为87.27%, 而治疗后离肝血流显著减少为19.09%, 向肝血流占70.91%, 两组之间比较差异显著($P<0.01$)。

EVL治疗后两组LGV直径、平均血流速度、平均血流量较出血组均显著减少, 差异具有显著统计学意义($P<0.01$), 治疗后LGV血流动力学改变, 可能是由于在EVL治疗前存在较大的门体分流, EVL治疗后, 由于食管静脉的血流被阻断, 从而导致通过LGV的血流量减少, 表明EVL治疗有益于改善肝脏的血流灌注, 可能有利于肝脏功能的恢复^[15]。LGV平均流速、血流量以及血流方向的改变证明EVL的临床实用性和有效性, 对于减少食管静脉曲张内镜下治疗后近期内复发及再出血具有重要意义。以上观点与Kuramochi等^[16]报道的门脉压越高、血流速度越快、胃左静脉曲张越明显一致。

总之, 三维多普勒超声测量胃左静脉血流动力学参数, 可用于静脉曲张出血风险的评估和预测, 有助于术者选择合适的时间对食管静脉曲张患者进行预防性套扎, 让患者获得最佳利益。此外, 还可应用于EVL治疗食管静脉曲张治疗效果的评价。

4 参考文献

- 1 Amitrano L, Guardascione MA, Manguso F, Beninato R, Bove A, DeNucci C, Lombardi G, Martino R, Menchise A, Orsini L, Picascia S, Riccio E. The effectiveness of current acute variceal bleed treatments in unselected cirrhotic patients: refining short-term prognosis and risk factors. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1872-1878 [PMID: 23007003 DOI: 10.1038/ajg.2012.313]
- 2 宋兵, 李彩英, 刘增品, 赵林, 白文元. 胃左静脉MSC-TA预测肝硬化门静脉高压食管胃底静脉曲张破裂出血的价值. *临床放射学杂志* 2011; 30: 979-983
- 3 李丹, 张谊, 朱张茜. 胃左静脉血流参数与食管静脉曲张破裂出血的相关性研究. *中华普通外科杂志* 2012; 27: 242-243
- 4 汤照峰, 潘楚芝, 方和平, 邓美海, 凌云彪, 许瑞云. 纳米磁流体靶向栓塞食道曲张静脉破裂出血的研究. 中

华实验外科杂志 2011; 28: 1337-1338

- 5 Arruda SM, Barreto VS, Amaral FJ. Duplex sonography study in schistosomiasis portal hypertension: characterization of patients with and without a history of variceal bleeding. *Arq Gastroenterol* 2008; 45: 11-16 [PMID: 18425222 DOI: 10.1590/s0004-8032008000100003]
- 6 秦将均, 涂蓉, 巫北海, 俞安乐, 王正文, 伍保忠. 胃左静脉的多层螺旋CT评价对预测食管静脉曲张出血风险的价值. *实用放射学杂志* 2011; 27: 321-322
- 7 Kawasaki K, Kanaji S, Kobayashi I, Fujita T, Kominami H, Ueno K, Tsutida S, Ohno M, Ohsawa M, Fujino Y, Tominaga M, Nakamura T. Kawasaki K, Kanaji S, Kobayashi I, Fujita T, Kominami H, Ueno K, Tsutida S, Ohno M, Ohsawa M, Fujino Y, Tominaga M, Nakamura T. *Gastric Cancer* 2010; 13: 25-29 [PMID: 20373072 DOI: 10.1007/s10120-009-0530-y]
- 8 Fang GD, Dionysiou DD, Wang Y, Al-Abed SR, Zhou DM. Sulfate radical-based degradation of polychlorinated biphenyls: effects of chloride ion and reaction kinetics. *J Hazard Mater* 2012; 227-228: 394-401 [PMID: 22683213 DOI: 10.1007/s10396-011-0329-4]
- 9 Kakutani H, Hino S, Koyama S, Uchiyama Y, Sumiyama K, Imazu H, Kawamura M, Tajiri H. How do we select an endoscopic treatment for esophageal varices on the basis of hemodynamic analysis using color Doppler endoscopic ultrasonography. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 410-414 [PMID: 23047383 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3182610920]
- 10 Rebibo L, Chivot C, Fuks D, Sabbagh C, Yzet T, Regimbeau JM. Three-dimensional computed tomography analysis of the left gastric vein in a pancreatectomy. *HPB (Oxford)* 2012; 14: 414-421 [PMID: 22568419]
- 11 Wang Q, Chen T, Yang Z, Li X, Qian L. [Portal venography with 64-slice MDCT in evaluation of the anatomic distribution of compensatory circulation resulting from posthepatic cirrhosis]. *Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi* 2010; 27: 511-515 [PMID: 20649008]
- 12 Ito K, Matsutani S, Maruyama H, Akiike T, Nomoto H, Suzuki T, Fukuzawa T, Mizumoto H, Saisho H. Study of hemodynamic changes in portal systemic shunts and their relation to variceal relapse after endoscopic variceal ligation combined with ethanol sclerotherapy. *J Gastroenterol* 2006; 41: 119-126 [PMID: 16568370 DOI: 10.1007/s00535-005-1730-9]
- 13 Zhang Y, Wen TF, Yan LN, Yang HJ, Deng XF, Li C, Wang C, Liang GL. Preoperative predictors of portal vein thrombosis after splenectomy with periesophagogastric devascularization. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1834-1839 [PMID: 22553410 DOI: 10.3748/wjg.v18.i15.1834]
- 14 Adithan S, Venkatesan B, Sundarajan E, Kate V, Kalayarasan R. Color Doppler evaluation of left gastric vein hemodynamics in cirrhosis with portal hypertension and its correlation with esophageal varices and variceal bleed. *Indian J Radiol Imaging* 2010; 20: 289-293 [PMID: 21423905]
- 15 Chen TW, Yang ZG, Wang QL, Li X, Yu JQ, Qian LL, Wang RR. Evaluation of gastric fundic and oesophageal varices by 64-row multidetector computed tomography before and after transjugular intrahepatic portosystemic shunt with concurrent left gastric vein embolization. *Eur J Gastroenterol Hepatol*

- 2010; 22: 289-295 [PMID: 19543103 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832e09ce]
- 16 Kuramochi A, Imazu H, Kakutani H, Uchiyama Y, Hino S, Urashima M. Color Doppler endoscopic ul-

trasonography in identifying groups at a high-risk of recurrence of esophageal varices after endoscopic treatment. *J Gastroenterol* 2007; 42: 219-224 [PMID: 17380280 DOI: 10.1007/s00536-006-1992-x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行核对, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

PDCA循环模式对急诊胃镜患者焦虑情绪的影响

章海华, 王珠美, 盛俊霞, 赵萌秋

■背景资料

胃镜检查作为一种应激源, 对躯体和心理都会产生一定的反应和损害, 其中焦虑情绪发生率较高, 给患者带来痛苦, 也对检查带来不利影响。计划实施检查评价(plan do check action, PDCA)护理模式是护理质量管理的基本方法, 将急诊胃镜患者的焦虑情绪作为PDCA护理管理的焦点, 以此提高护理质量, 改善患者焦虑情绪具有重要的现实意义。

章海华, 王珠美, 盛俊霞, 赵萌秋, 杭州市余杭区第二人民医院 浙江省杭州市 311121

章海华, 主管护师, 主要从事急诊医学护理研究。

作者贡献分布: 本课题由章海华与盛俊霞共同设计; 标本收集与管理由章海华、王珠美、盛俊霞及赵萌秋共同完成; 量表评定及生命体征指标测定由王珠美、盛俊霞及赵萌秋完成; 数据管理及统计由赵萌秋完成; 论文撰写由章海华与盛俊霞完成。

通讯作者: 盛俊霞, 主管护师, 311121, 浙江省杭州市余杭区余杭街道安乐路80号, 杭州市余杭区第二人民医院急诊科。

zjz2008001@sina.com.cn

电话: 0571-86859399

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-09-01

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-18

Effect of Plan-Do-Check-Act cycle in relieving anxiety in patients undergoing emergency gastroscopy

Hai-Hua Zhang, Zhu-Mei Wang, Jun-Xia Sheng, Meng-Qiu Zhao

Hai-Hua Zhang, Zhu-Mei Wang, Jun-Xia Sheng, Meng-Qiu Zhao, Yuhang District Second People's Hospital of Hangzhou City, Hangzhou 311121, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Jun-Xia Sheng, Nurse-in-Charge, Yuhang District Second People's Hospital of Hangzhou City, 80 Anle Road, Yuhang Street, Yuhang District, Hangzhou 311121, China. zjz2008001@sina.com.cn

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-09-01

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of Plan-Do-Check-Act (PDCA) cycle in relieving anxiety among patients undergoing emergency gastroscopy.

METHODS: Ninety-six patients receiving emergency gastroscopy were divided randomly into either a control group ($n = 46$) or an experimental group ($n = 50$). The control group underwent traditional nursing care, and the experiment group received PDCA before gastroscopy. The changes in heart rate, respiration, and blood pressure were monitored, and anxiety levels were compared between the two groups using the self-rating anxiety scale (SAS).

RESULTS: SAS score, heart rate, respiration, and blood pressure were not significantly differ-

ent between the experiment and control groups before intervention (all $P > 0.05$). After treatment, SAS score and the levels of heart rate, respiration rate, and blood pressure in the experiment group were significantly lower than those before treatment and those in the control group (pre- and post-treatment: SAS score 53.71 ± 9.29 vs 40.75 ± 2.66 , $P < 0.01$; heart rate $96.23/\text{min} \pm 0.04/\text{min}$ vs $81.25/\text{min} \pm 1.22/\text{min}$, $P < 0.01$; respiration rate $16.77/\text{min} \pm 2.38/\text{min}$ vs $12.33/\text{min} \pm 2.36/\text{min}$, $P < 0.05$; systolic pressure $126.23 \text{ mmHg} \pm 15.14 \text{ mmHg}$ vs $112.25 \text{ mmHg} \pm 8.55 \text{ mmHg}$, $P < 0.05$; diastolic pressure $72.29 \text{ mmHg} \pm 7.11 \text{ mmHg}$ vs $62.74 \text{ mmHg} \pm 9.32 \text{ mmHg}$, $P < 0.05$). The effective rate was significantly higher in the experiment group than in the control group (80% vs 67.3%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: PDCA cycle can reduce the degree of preoperative anxiety in patients undergoing emergency gastroscopy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Plan do check action cycle; Gastroscopy; Anxiety; Emergency nursing

Zhang HH, Wang ZM, Sheng JX, Zhao MQ. Effect of Plan-Do-Check-Act cycle in relieving anxiety in patients undergoing emergency gastroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3556-3560 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3556.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3556>

摘要

目的: 探讨计划实施检查评价(plan do check action, PDCA)循环模式用于改善急诊胃镜患者焦虑情绪的应用效果。

方法: 对需要行急诊胃镜检查的96例急诊患者随机分为实验组50例和对照组46例, 对照组采用传统的胃镜检查护理方法, 实验组应用PDCA循环法, 即对急诊胃镜患者焦虑情绪进行分析、总结, 并落实相应护理干预措施, 比较两组干预前后焦虑自评量表焦虑自评量表评分(self-rating anxiety scale, SAS)评分、焦

■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

虑情绪改善疗效及心率、呼吸、血压等指标变化。

结果: 两组患者干预前SAS评分及心率、呼吸、血压均无统计学差异(均 $P>0.05$); 干预后, 实验组SAS评分、心率、呼吸、血压水平均显著低于干预前及低于对照组(干预前后SAS评分 53.71 ± 9.29 vs 40.75 ± 2.66 , $P<0.01$; 心率 96.23 次/min ± 0.04 次/min vs 81.25 次/min ± 1.22 次/min, $P<0.01$; 呼吸 16.77 次/min ± 2.38 次/min vs 12.33 次/min ± 2.36 次/min, $P<0.05$; 收缩压 126.23 mmHg ± 15.14 mmHg vs 112.25 mmHg ± 8.55 mmHg, $P<0.05$; 舒张压 72.29 mmHg ± 7.11 mmHg vs 62.74 mmHg ± 9.32 mmHg, $P<0.05$), 而焦虑情绪改善有效率明显高于对照组(80% vs 67.3% , $P<0.05$)。

结论: 通过实施PDCA循环模式, 对急诊胃镜患者焦虑情绪不断进行评估、分析, 并进行相应护理干预, 能有效缓解急诊胃镜检查患者的紧张情绪, 减轻患者痛苦, 值得临床推广应用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 计划实施检查评价循环模式; 胃镜; 焦虑; 急诊护理

核心提示: 胃镜检查患者焦虑情绪发生率较高, 影响检查的顺利进行和检查效果。本研究运用计划实施检查评价(plan do check action)护理模式对患者进行干预, 分析产生焦虑的病因, 制定详细周密的护理计划, 注重护理质量的不断提高, 有效缓解了急诊胃镜检查患者的焦虑情绪。

章海华, 王珠美, 盛俊霞, 赵萌秋. PDCA循环模式对急诊胃镜患者焦虑情绪的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3556-3560
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3556.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3556>

0 引言

随着胃镜技术的日趋完善和成熟, 急诊胃镜已成为明确诊断和治疗上消化道疾病的重要技术之一, 包括上消化道异物、出血及部分胆道蛔虫症等的有效手段, 其开展使这些急症能够得到及时、准确、有效的处理。尽管近年来胃镜检查被越来越多的人接受, 但急诊胃镜作为一种侵入性操作, 患者对这项技术不太了解, 且检查有一定的痛苦, 往往会产生强烈的生理、心理应激反应, 表现为不同程度的紧张、焦虑和恐惧, 常引起患者生命体征及心理变化^[1], 国内有研究发现, 接受胃镜检查的患者焦虑情绪的

发生率达 87% ^[2], 以致影响检查的顺利进行和检查效果^[3]。计划实施检查评价(plan do check action, PDCA)循环是实施全面质量管理, 在临床上最常用的护理质量管理的科学程序^[4-6]。为了减轻急诊胃镜检查患者术前焦虑程度, 良好地配合胃镜检查, 本研究于2010-10/2013-03对在本院行急诊胃镜检查的96例患者尝试使用PDCA循环模式, 取得良好的效果, 有效地缓解了患者术前焦虑程度, 现将方法及结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 96例患者中, 男44例、女52例, 年龄18-75岁, 平均年龄为 48.1 岁 ± 21.3 岁。其中71例为24-48 h上消化道出血, 22例为上消化道异物(硬币、纽扣、打火机等), 3例为胆道蛔虫症。纳入标准: (1)胃镜检查术前患者清醒; (2)无听力及视力障碍, 有良好的语言沟通能力; (3)符合胃镜检查适应证; (4)同意配合研究, 且有主诊医生书写胃镜检查申请单。术前均认真查体, 包括查肝功能、乙型肝炎5项、人类免疫缺陷病毒抗体检测、出凝血时间、心电图。排除标准: (1)有胃镜检查禁忌证; (2)精神障碍、生命体征不平稳及危急重症患者。将96例受检患者按随机数字法随机分为实验组和对照组, 其中实验组为50例, 男26例, 女24例, 平均年龄 47.1 岁 ± 23.6 岁; 对照组46例, 男24例, 女22例, 平均年龄 48.5 岁 ± 22.6 岁。两组患者在年龄、性别、文化程度、婚姻状况、经济状况、病情等一般资料无统计学差异(均 $P>0.05$), 具有可比性。所有患者术前均签订胃镜检查知情同意书。两组患者均由一组医生和助手进行操作, 均使用Olympus CV-260型电子胃镜检查。

1.2 方法

1.2.1 计划阶段: 所有入组患者在责任护士的指导下填写焦虑自评量表评分(self-rating anxiety scale, SAS), 对文化程度低不能完成SAS的患者, 由患者口述, 责任护士代写, 在完成护理干预后再进行一次SAS测评, 以评定干预的效果。对照组仅给予检查前的一般常规护理; 实验组按PDCA循环模式进行干预。PDCA循环法由护士长全面负责, 责任组长、内镜医生护士、主管护士成立质量管理小组, 负责PDCA循环实施及质量检查。

分析患者急诊胃镜检查前后产生焦虑的原因, 术前: 担心胃镜检查带来的痛苦体验; 胃镜室陌生的特殊环境及与陪同者隔离的孤立无助感使患者不适; 担心胃镜检查不顺利或术后效

■创新盘点

把一种护理质量管理模式用于消化内镜的护理, 其经验有一定创新性, 对加强消化内镜的护理工作也有启发意义, 经验值得借鉴, 也值得进一步在临床中应用验证其效果。

■应用要点

本文总结了将PDCA护理模式用于急诊内镜检查的经验,结果显示PDCA护理模式在急诊内镜检查中可以有效减轻患者焦虑紧张等心理生理反应,有助于提高急诊内镜检查的质量。

果不好;术中:急诊胃镜检查过程中,对咽喉、食道、胃形成强烈刺激,令患者痛苦,并产生焦虑恐惧心理。术后:胃镜检查后产生的腹部及咽喉部不适仍持续一定时间;检查后一些并发症(如活检引起的出血、胃镜检查时胃腔充气引起的腹胀、消化系穿孔等)加重患者的不适感,等待病例检查结果的焦虑。

1.2.2 制订计划:充分重视急诊胃镜检查患者的焦虑情绪,并将心理护理作为临床护理的一项重要的工作内容来完成。包括对患者进行足够的健康教育,包括胃镜检查的操作经过,不良反应及预防对策等,改善患者对胃镜检查的认知,缓解患者焦虑情绪等;改善胃镜室检查环境,充分做好检查前的麻醉工作,检查操作过程中动作轻柔,减轻检查后不适感等;正确引导家属与患者心理沟通与情感交流。

1.2.3 实施阶段:此阶段是PDCA循环模式的核心环节,针对引起患者焦虑的不同原因,按计划实施护理干预,重点实施心理干预,且贯穿护理过程始终。(1)取得患者信任,建立良好的护患关系:入院后责任护士热情接待,主动介绍科室工作人员,胃镜检查前介绍胃镜医师及护士,根据患者不同的年龄、性别、爱好及文化程度等,采取不同的交流方式与患者进行沟通,交流中尽量使用口语,态度和蔼可亲,争取尽早取得患者信任,鼓励患者诉说自己的不安与痛苦,耐心倾听和解答患者及家属的疑问;(2)认知干预,胃镜检查的认知不足是导致患者产生焦虑情绪的重要因素^[4]。故在急诊胃镜检查前,向患者口头详细介绍急诊胃镜检查的目的、方法;给予患者心理上的支持;向患者解释检查过程中可能出现的不适以及减轻不适的方法,让患者了解情绪、注意力、与医生的配合好坏都会影响到检查的进展;帮助患者消除疑虑,以轻松的心态接受检查和治疗。让患者了解胃镜检查过程中可能出现的不适和反应,检查过程中如何配合医生护士以最大限度地减轻这些不适和痛苦;给患者讲解情绪紧张对胃镜检查尤其对插管的不利影响,给患者讲解其安全性,缓解患者的紧张情绪;检查时责任护士守护在患者身边,分散患者注意力使其全身放松,护士及时指导、鼓励、帮助、引导患者配合检查,若患者恶心,让其深呼吸、嘴角放低使胃内容物顺利排出并及时清除以避免发生呛咳,增强患者的自信心,使其处于最佳心理状态,顺利地完胃镜检查。对于焦虑症状严重的患者,在检查前将疾病的相

关知识、手术经过、术后患者的恢复情况及预后,术后患者谈的感受,健康教育和康复指导等制作成形象、生动的多媒体课件,在手术前由1名责任护士为患者集中播放,不懂之处、重点之处重复播放,让患者加深理解并牢记于心,积极与医护人员配合。或在检查前0.5-1.0 h播放舒缓柔和的音乐放松心情,让患者在优美的音乐声中等待手术,以缓解焦虑情绪;(3)检查前充分表面麻醉,对极度恐惧检查的患者,情况允许行无痛胃镜检查,或家属陪同检查。检查过程中,胃镜医师尽量动作轻柔,减少对食管及胃腔的刺激,检查结束后尽量抽尽胃腔气体。

1.2.4 检查阶段:质量管理小组按不同时段要求,由护士长定时检查是否达到预期目标。检查内容包括如下内容:患者的焦虑程度的评估;护理工作质量是否符合要求,护士是否及时了解患者心理状态及采取相应措施满足患者的护理需求;患者及家属对护理工作的满意度;检查前后患者SAS测量表完成情况,检查形式包括:自查、科查及质控组查。

1.2.5 处理阶段:根据护士长检查结果,进行阶段性分析总结,找出护理计划执行中存在的问题,作为持续质量改进目标改进,提出解决方案及防范措施,从而转入下一个的循环,重新制定新的目标及进度计划,在不断往复中不断修正、完善干预计划。

1.2.6 观察指标及方法:焦虑自评量表评分(SAS):所有患者干预前后30 min采用Zung焦虑自评量表^[3]对进行焦虑状态的测定:此量表为含20个项目的自评量表,20个项目的正、反向记分相加所得积分乘以1.25得标准分,标准分50分为分界线,即标准分 ≤ 50 分为无焦虑紧张, > 50 分为有焦虑紧张,评分越高焦虑越重。入组后有责任护士完成患者一般情况调查问卷的填写,所有入组患者在责任护士的指导下填写SAS,对文化程度低不能完成SAS的患者,由患者口述,责任护士代其填写。

客观生理指标:包括心率、呼吸、收缩压、舒张压等,采用飞利浦MP60型心电图监护仪监测。

疗效评定:SAS减分率 $> 50\%$ 为显效;减分率 $49\%-25\%$ 为有效;SAS减分率 $< 25\%$ 为无效。其中总有效率=(显效例数+有效例数)/(显效例数+有效例数+无效例数) $\times 100\%$ 。

统计学处理 采用SPSS11.5软件进行统计,所有数据行描述性分析、正态性检验及方差齐性检验,在描述性分析中,对于正态分布的数据,

表 1 两组SAS评分比较(n , mean \pm SD)

分组	n	干预前	干预后
对照组	46	56.18 \pm 7.63	47.22 \pm 6.34
实验组	50	53.71 \pm 9.29	40.75 \pm 2.66 ^{ad}

^a $P < 0.05$ vs 干预后对照组; ^d $P < 0.01$ vs 干预前实验组.

表 2 两组患者疗效比较 n (%)

分组	n	显效	有效	无效	总有效率(%)	χ^2 值	P 值
对照组	46	15(32.6)	16(45.8)	15(32.6)	67.3	6.67	0.03
实验组	50	28(56)	12(24)	10(20)	80	7	8

表 3 两组患者生理指标的比较(mean \pm SD)

分组	n	心率(次/min)		呼吸(次/min)		收缩压(mmHg)		舒张压(mmHg)	
		干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	41	98.28 \pm 2.12	93.26 \pm 1.03	16.75 \pm 2.15	15.16 \pm 1.18	128.28 \pm 12.01	120.26 \pm 10.26	69.75 \pm 8.47	66.90 \pm 10.01
实验组	37	96.23 \pm 0.04	81.25 \pm 1.22 ^d	16.77 \pm 2.38	12.33 \pm 2.36 ^{ad}	126.23 \pm 15.14	112.25 \pm 8.55 ^e	72.29 \pm 7.11	62.74 \pm 9.32 ^a

^a P , ^e P , ^a $P < 0.05$ vs 同指标干预前实验组; ^d $P < 0.01$ vs 同指标干预前实验组.

以mean \pm SD表示, 正态分布数据经方差齐性检验后采用独立样本的 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 干预前后两组患者SAS评分比较 干预前, 两患者组SAS评分无统计学差异($P > 0.05$); 干预后, 实验组SAS评分较干预前显著下降($P < 0.01$), 同时亦明显低于对照组($P < 0.05$)(表1).

2.2 干预前后两组患者焦虑改善疗效比较 实验组焦虑情绪改善总有效率为80%, 对照组改善总有效率为67.3%, 两组比较有统计学差异($P = 0.038$, 表2).

2.3 两组患者生理指标的比较 干预前, 两患者组心率、呼吸及收缩压舒张压均无统计学差异(均 $P > 0.05$); 干预后, 实验组患者的心率、呼吸、血压均较干预前显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而对照组干预后与干预前相比无统计学差异(均 $P > 0.05$)(表3).

3 讨论

急诊胃镜是诊断和治疗上消化道出血、急性上

腹痛、食管及胃内异物等有效手段, 但作为一种侵入性检查, 可引起患者一定痛苦, 部分患者对胃镜检查过程不完全了解甚至误解, 术前术中容易产生紧张焦虑、恐惧的心理, 拒绝或害怕检查, 因此许多患者往往不能很好地配合检查, 从而影响了疾病的诊治^[4,7]. 因此, 如何针对患者的心理特点开展有效的护理, 缓解患者的焦虑状态, 对于急诊胃镜检查的诊断与治疗具有重要意义.

PDCA模式是美国质量管理专家戴明博士根据客观规律总结提出, 是广泛应用于质量管理的标准化、科学化的循环体系^[8], 其主要特点是按照制定的质量管理计划, 从实施、审核评价到整改循环不断的运转, 达到提高管理质量的不断提升^[9]. 因其对质量控制的全面性、持续改进性、不断提升性而在护理工作中受到越来越多的推崇^[10-12]. 目前, PDCA护理模式在胃镜患者焦虑情绪的干预研究中运用尚不多, 本研究以急诊胃镜患者作为管理对象, 运用PDCA护理模式进行干预, 多角度多环节分析检查者产生焦虑情绪的病因, 制定详细周密的护理计划, 实施过程中注重护理质量和疗效的改善, 质量管

■同行评价

本文探讨了PDCA护理模式对急诊胃镜患者焦虑情绪的改善作用, 具有较高的临床指导意义.

理小组加强监督管理,对运转过程中出现的问题和不足及时改进和纠正,干预结束后发现,实验组SAS评分较干预前显著下降($P<0.01$),较对照组干预后SAS评分亦明显下降,同时实验组患者的心率、呼吸、血压均较干预前显著降低,实验组焦虑情绪改善总有效率明显高于对照组,提示使用PDCA护理模式能明显降低患者胃镜检查前的焦虑紧张程度。

有研究^[4]显示,胃镜检查的认知不足是导致患者产生焦虑情绪的重要因素。认知方面的不足主要集中在:认为胃镜检查痛苦是必然的,自己是非常被动的,于是在检查过程中常表现出不恰当的呼吸方式、喉部、腹部等肌肉的不适当收缩和个人行为配合不良等问题,从而使胃镜受检者出现比胃镜检查本身应该出现的程度更大的痛苦感受^[13]。胃镜检查是一种应激源,易造成患者紧张、恐惧、忧虑等负性情绪而导致生理上的应激反应,这种反应通过中枢神经影响植物神经系统,使患者植物神经功能紊乱,导致体内儿茶酚胺释放增加,易引起患者心率增快、血压升高等^[14]。本研究通过一系列措施提高患者对胃镜检查的认知水平,帮助胃镜受检者建立在检查过程中的主动能力,消除了其紧张情绪。科学的管理手段是提高医疗护理质量的重要保证^[15]。PDCA循环模式的一系列监督机制,提高了护理人员的责任心,保证了干预工作的按步实施,提高了护理质量和管理者的素质。

总之,对急诊胃镜患者实施PDCA循环模式,能有效地减轻患者的心理生理反应,增强对检查的应激能力,明显降低患者胃镜检查前的焦虑紧张程度,值得临床推广应用。

4 参考文献

- 1 熊汉华, 张休休. 194例行胃镜检查老年患者焦虑和抑郁问卷分析. 临床消化病杂志 2011; 23: 339-340
- 2 李桂英, 胡云鹤. 心理护理干预在急诊胃镜止血中的应用及对患者焦虑紧张情绪的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1346-1349
- 3 刘义兰, 王桂兰, 任小英, 骆秋芳, 陈冬娥, 赵光红, 宁玉萍. 住院病人对护理行为关怀性评价的调查研究. 中华护理杂志 2002; 37: 245-248
- 4 焦宏彬, 赵晓巍, 马洪杰, 谢景红, 王红霞. 术前访视对电子气管镜检查患者焦虑的影响. 中国急救复苏与灾害医学杂志 2009; 4: 424-426
- 5 Saxena S, Ramer L, Shulman IA. A comprehensive assessment program to improve blood-administering practices using the FOCUS-PDCA model. *Transfusion* 2004; 44: 1350-1356 [PMID: 15318860 DOI: 10.1111/j.1537-2995.2004.03117.x]
- 6 Li JS, Zhang XG, Chu J, Suzuki M, Araki K. Design and development of EMR supporting medical process management. *J Med Syst* 2012; 36: 1193-1203 [PMID: 20811768 DOI: 10.1007/s10916-010-9581-1]
- 7 童许英. 小剂量咪达安定用于全结肠镜检查患者的护理. 上海护理 2005; 5: 40-41
- 8 王丽华, 缪滔, 朱玲凤, 程凤敏. 运用PDCA模式管理病区环境. 中华护理杂志 2011; 46: 893-895
- 9 Williams HF, Fallone S. CQI in the acute care setting: an opportunity to influence acute care practice. *Nephrol Nurs J* 2008; 35: 515-522 [PMID: 18856084]
- 10 胡妙仙, 谢红燕, 陶芳芳, 谢海萍. PDCA循环模式在急诊危重患者安全转运中的应用. 中国现代医生 2012; 50: 122-126
- 11 章玉兰, 杜菊媛. PDCA循环法在改善急诊留观患者睡眠障碍中的应用. 中国实用护理杂志 2010; 26: 19-20
- 12 Mongkhonthawornchai S, Pradubwong S, Augsornwan D, Pongpagatip S, Rirattanapong S, Prathumwiwattana P, Seanbon A, Uppan K, Chowchuen B. Nursing care system development for patients with cleft lip-palate and craniofacial deformities at Srirangarind Hospital. *J Med Assoc Thai* 2012; 95 Suppl 11: S49-S54 [PMID: 23961620]
- 13 曹梅娟, 楼青青. 认知干预对胃镜检查患者焦虑和痛苦体验影响的研究. 上海护理 2006; 6: 4-6
- 14 彭立志, 张琳, 洪军. 音乐治疗减轻手术焦虑的研究. 国外医学(护理学分册) 2004; 23: 363-364
- 15 张红, 宋辉, 张晓暖. 手术室护理质量的监控方法. 中华护理杂志 2002; 37: 615

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



平顶山市矿区非酒精性脂肪肝的患病率及危险因素

王宏伟, 曹丽丽, 胡寒冰, 樊全治, 高鸿亮

王宏伟, 胡寒冰, 樊全治, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科 河南省平顶山市 467000

曹丽丽, 中国人民解放军302医院青少年肝病诊疗与研究中心 北京市 100039

高鸿亮, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

王宏伟, 主治医师, 主要从事胃肠疾病与脂肪性肝病的研究。

作者贡献分布: 王宏伟与曹丽丽对本文所作贡献均等; 此课题由王宏伟、曹丽丽及樊全治共同设计; 数据收集与整理由王宏伟、胡寒冰、樊全治及高鸿亮完成; 统计分析由高鸿亮及王宏伟完成; 论文写作由王宏伟与曹丽丽完成。

通讯作者: 王宏伟, 主治医师, 467000, 河南省平顶山市卫东区一矿路东中国平煤神马集团一矿医院, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科。com0707@sina.com

电话: 0375-2721890

收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-29

接受日期: 2013-10-18 在线出版日期: 2013-11-18

Prevalence and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease in the mining area of Pingdingshan city

Hong-Wei Wang, Li-Li Cao, Han-Bing Hu, Quan-Zhi Fan, Hong-Liang Gao

Hong-Wei Wang, Han-Bing Hu, Quan-Zhi Fan, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pingdingshan Shenma Group, Pingdingshan 467000, Henan Province, China

Li-Li Cao, Treatment and Research Center for Children's Liver Diseases, 302nd Hospital of the PLA, Beijing 100039, China

Hong-Liang Gao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Correspondence to: Hong-Wei Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pingdingshan Shenma Group, Pingdingshan, 467000, Henan Province, China. com0707@sina.com

Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-29

Accepted: 2013-10-18 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To analyze the prevalence of and main risk factors for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in Pingdingshan city.

METHODS: A total of 2299 participants were selected from 66 crew teams in Pingdingshan city by cluster random sampling. Questionnaires were used to investigate the prevalence of NAFLD, and non-conditional Logistic regression

analysis was used for analysis of risk factors for NAFLD.

RESULTS: The overall prevalence of NAFLD was 22.48% (517/2299). The prevalence rate of NAFLD was significantly higher in males than in females [31.12% (366/1176) vs 13.41% (151/1123), $P < 0.05$]. Overweight (OR = 4.708), hyperlipidemia (OR = 3.781), hyperuricemia (OR = 3.239), high blood sugar (OR = 2.363), hypertension (OR = 1.976), cholelith disease (OR = 2.722), and abnormal hepatic function (OR = 2.430) were risk factors for NAFLD (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gender (male), overweight, hyperlipidemia, hyperuricemia, high blood sugar, high blood pressure, cholelith disease, and abnormal hepatic function are related to NAFLD. Targeted interventions are necessary to reduce and prevent the occurrence of NAFLD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Risk factors; Prevalence

Wang HW, Cao LL, Hu HB, Fan QZ, Gao HL. Prevalence and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease in the mining area of Pingdingshan city. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3561-3565 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3561.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3561>

摘要

目的: 了解平顶山市矿区非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率及其危险因素, 为矿区NAFLD防治提供可能科学依据。

方法: 通过整群抽样的方法, 抽取2012-06/2013-04在平顶山市矿区66个区队2299例地面工作人员进行NAFLD患病率调查, 采用单因素和多因素Logistic回归分析非酒精性脂肪肝的相关危险因素。

结果: (1)2299例工作人员NAFLD的患病率为

■背景资料

人民生活水平的提高, 肥胖的流行, 非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率增加, 我国城市NAFLD发病率大约是15%; 随着肥胖人口的增加, NAFLD的患病率在过去十年间增加了近一倍, 且发病年龄有年轻化趋势, 严重危害人群健康, 成为全球性健康问题。

■同行评议者

朱传武, 主任医师, 苏州市第五人民医院

■ 研究前沿

脂肪肝与高血压、糖尿病、血脂紊乱、肥胖密切相关,且发病率持续上升,对健康的威胁日趋明显。加强NAFLD的患病率以及相关危险因素的研究,采取必要的防治措施,努力把NAFLD的危害降到最低。

22.48%(517/2299),其中,男性患病率为31.12%(366/1176),女性患病率为13.41%(151/1123),男女患病率间差异有统计学意义($P<0.05$);(2)多因素Logistic回归分析显示,腰围($OR=5.948$)、体质量指数(body mass index, BMI)($OR=4.708$)、高脂血症($OR=3.781$)、高尿酸血症($OR=3.239$)、高血糖($OR=2.363$)、高血压($OR=1.976$)、胆石症($OR=2.722$)、肝功异常($OR=2.430$)为平顶山矿区地面工作人员非酒精性脂肪肝的主要危险因素($P<0.05$)。

结论: 性别(男)、超质量、高脂血症、高尿酸血症、高血糖、高血压、胆石症、肝功异常可能是非酒精性脂肪肝发病的危险因素,应有针对性的进行干预。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 危险因素; 患病率

核心提示: 本文对矿区工作人员非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)流行率及危险因素进行研究,具有一定的现实意义,为预防和减少该矿区NAFLD的发病率具有一定的指导价值。

王宏伟, 曹丽丽, 胡寒冰, 樊全治, 高鸿亮. 平顶山市矿区非酒精性脂肪肝的患病率及危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3561-3565 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3561.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3561>

0 引言

随着人民生活水平的提高,肥胖的流行,非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率也随之增加,我国城市NAFLD发病率大约是15%;且发病年龄有年轻化趋势,严重危害人群健康,成为全球性健康问题。矿区多位于城乡结合部,关于矿区的流行病学调查资料较少,本论文对平顶山矿区地面工作人员NAFLD进行流行病学调查,目的在于了解平顶山矿区NAFLD的患病率以及相关危险因素,为矿区NAFLD防治提供可能的科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 通过整群抽样的方法抽取平顶山矿区66个地面单位的工作人员,所需样本量3014例,最终抽取了2299例。

1.2 方法

1.2.1 调查方法及项目: 采用横断面的研究方法,

自行设计调查问卷、结合体格检查以及实验室、彩超进行调查,内容包括:(1)个人资料:调查对象的年龄、性别、联系电话、单位、生活方式(吸烟、饮酒、锻炼情况)、既往病史(高血压、冠心病、糖尿病史);(2)体格检查:身高、体质量、体质量指数(body mass index, BMI)、腰围、血压(由经过平顶山市计量监督所校正的袖带式血压计进行测量,由体检中心固定的医生和护士测量);(3)实验室检查:血脂、空腹血糖、尿酸、肝功能(均采用大型生化分析仪测定);(4)肝胆彩超:由腹部超声室2名固定的具有资质的主治医师使用Aloka-a7型全身彩超进行诊断。

1.2.2 诊断标准: (1) NAFLD的诊断按照2010版^[1]中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组的指南严格执行:临床诊断:无饮酒史或饮酒折合乙醇量 $<140\text{ g/wk}$ (女性 $<70\text{ g/wk}$);除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性、自身免疫性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病;肝活检组织学改变符合脂肪性肝病的病理学诊断标准;(2)超声诊断标准:肝区近场弥漫性点状高回声,回声强度高于脾脏和肾脏,少数表现灶性高回声;远场回声衰减,光点稀疏;肝内管道结构显示不清;肝脏轻度或中度肿大,肝前缘变钝;(3)高血脂、血糖增高、高血压的判定标准参照:2010版中国高血压防治指南和中国糖尿病防治指南的标准^[2,3];(4)超质量及肥胖:体质量指数=体质量/身高²($BMI=\text{kg/m}^2$), $24\text{ kg/m}^2\leq BMI<28\text{ kg/m}^2$ 为超质量, $BMI\geq 28\text{ kg/m}^2$ 为肥胖;(5)高尿酸血症:男性 $>420\text{ }\mu\text{mol/L}$,女性 $>350\text{ }\mu\text{mol/L}$ 可诊断高尿酸血症。

统计学处理 采用Excell进行数据录入,采用SPSS17.0软件进行数据分析。率的比较采用 χ^2 检验,计量采用 t 检验。采用Logistic回归进行单因素和多因素分析。

2 结果

2.1 调查对象的一般资料及NAFLD的患病情况 2299例调查对象中男1176例,占51.15%;女1123例,占48.84%,男女之比1:1.03。NAFLD的总患病率为22.48%(517/2299),其中,男患病率为31.12%(366/1176),女患病率为13.41%(151/1123);年龄分组20-29岁组、30-39岁组、40-49岁组、50-59岁组、60岁以上组的患病率分别为25.3%、19.3%、21.3%、28.3%、27.0%。男女患病率、各年龄组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 NAFLD危险因素单因素分析表

变量	NAFLD	非NAFLD	χ^2 值	P值
性别			102.97	0
男	366	810		
女	151	972		
年龄(岁)			15.793	0.003
20-29	23	68		
30-39	143	597		
40-49	196	723		
50-59	145	367		
≥60	10	27		
吸烟			51.88	0
是	369	955		
否	148	148		
饮酒			3.001	0.223
是	462	1546		
否	55	236		
腰围(cm)			10.122	0.001
<85	64	327		
≥85	454	1455		
BMI(kg/m ²)			9.449	0.002
<28	63	319		
≥28	454	1463		
血脂异常			282.654	0
是	244	249		
否	1538	268		
高血压			123.026	0
是	178	152		
否	1603	365		
高尿酸			96.881	0
是	51	72		
否	1603	365		
肝功异常			79.54	0
是	180	131		
否	1731	445		
胆石症			9.776	0.003
是	31	21		
否	1751	496		
高血糖			117.136	0
是	212	165		
否	1570	352		

■相关报道

范建高等报道上海NAFLD的患病率是17.29%及林连捷等对沈阳市成年居民NAFLD患病率41.64%。

NAFLD: 非酒精性脂肪肝; BMI: 体质质量指数。

2.2 NAFLD影响因素分析

2.2.1 单因素分析: 对13个研究因素与NAFLD的关系进行分析表明, 性别、超质量、高脂血症、高尿酸血症、高血糖、高血压、胆石症、肝功异常与NAFLD发病相关($P<0.05$, 表1)。

2.2.2 多因素分析: 以 $\alpha = 0.05$ 为显著性水准, 进入回归模型的变量有: 性别、年龄、BMI、腰围、吸烟、高脂血症、高尿酸血症、高血糖、

高血压、胆石症、肝功异常, 其中性别、吸烟、BMI、腰围、超质量、高脂血症、高尿酸血症、高血糖、高血压、胆石症、肝功异常为NAFLD的危险因素($P<0.05$, 表2)。

3 讨论

中国的NAFLD患病率非常普遍, NAFLD总的患病率平均为15%, 随着肥胖人口的增加, NAFLD

■同行评价

相对于一个具体的地区,研究内容具有一定的现实意义。

表 2 NAFLD危险因素多因素Logistic分析表

变量	回归系数 B	标准误 SE	Wald值	自由度 df	P值	OR值 Exp(B)	95%CI	
							下限	上限
性别	-0.307	0.192	19.487	2	0.000			
年龄组	-0.007	0.070	1.200	1	0.273	0.818	0.693	0.966
吸烟	-0.048	0.194	0.062	1	0.803	0.953	0.651	1.394
BMI	1.549	0.391	15.731	1	0.000	4.708	2.189	10.123
腰围	1.783	0.369	23.317	1	0.000	5.948	2.884	12.266
高血脂	1.330	0.157	71.683	1	0.000	3.781	2.779	5.145
高血压	0.681	0.165	17.028	1	0.000	1.976	1.430	2.731
高尿酸	1.175	0.282	17.398	1	0.000	3.239	1.865	5.627
肝功能异常	0.888	0.188	22.294	1	0.000	2.430	1.681	3.512
胆结石	1.001	0.326	9.425	1	0.002	2.722	1.436	5.159
高血糖	0.860	0.172	25.091	1	0.000	2.363	1.688	3.309

NAFLD: 非酒精性脂肪肝; BMI: 体质指数。

的患病率在过去十年间增加了近一倍。据文献报告^[4,5], 上海NAFLD的患病率是17.29%, 广东的患病率为15.0%, 城市高于农村, 沿海发达地区高于内陆欠发达地区。50岁以前男性多于女性。林连捷等^[6]对沈阳市1100例成年居民脂肪肝调查表明, 成年居民脂肪肝患病率41.64%, 男性患病率明显高于女性(45.15% vs 37.45%), 41-50岁组的脂肪肝患病率最高。本资料显示, 矿区的NAFLD的患病率为22.48%, 高于全国的平均水平, 且男性患病率高于女性患病率; 发病年龄集中在30-59岁之间, 以40-49岁组发病率最高, 这与全国的调查相似。这可能与此次调查对象多来自矿区地面工作人员, 从事脑力劳动为主, 平时缺乏运动以及地区差异有关。

大量研究表明NAFLD与肥胖、糖代谢异常、高血压和高脂血症有密切关系。刘安楠等^[7]的一项研究结论表明, NAFLD组中的肥胖、高血压、糖尿病、血脂异常的检出率显著高于非NAFLD组。范建高等^[4]对上海3175名成人的调查也得出同样的结论。Lv等^[8]调查1217例2型糖尿病患者, 分析NAFLD与2型糖尿病微血管并发症的关系, 结果提示NAFLD与BMI、腰围、高血压、高血脂、糖耐量异常显著相关。本研究结果提示, 矿区地面工作人员NAFLD的主要危险因素与超重、高血压、高血脂、高血糖有关, 腰围 $\geq 85 \text{ kg/m}^2$ 、BMI $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ 患NAFLD的风险高于腰围、BMI正常者, 提示肥胖超重是NAFLD重要的危险因素, 应该加强对矿区人员的健康教育、使其养成合理膳食和运动的良好习惯。

关于胆结石、高尿酸血症、肝功能异常是

否是NAFLD的危险因素, 目前有较大争议。中国台湾的一项研究^[9]表明, 在没有乙型和丙型肝炎病毒感染的社区居民中, 若ALT值上升, 则其NAFLD的患病率也会增加(OR = 15.45)。其他研究也表明^[10-12], 随着ALT值的升高, NAFLD也出现上升趋势。评估肝功水平被认为是监测NAFLD患者最有用的指标, 高肝功水平与肝实质细胞的脂肪化程度相关, 尤其在肥胖儿童中, 高肝功水平可作为NAFLD的有效预测^[11]。Chen等^[9]的一项调查表明NAFLD与高尿酸血症关系密切, 高尿酸与NAFLD的流行率有关, 大约增加了1.5倍。李金萍等^[12]报告NAFLD患者的尿酸异常明显高于对照组, 高尿酸水平可能是NAFLD的重要的危险因子。Xu等^[13]一项前瞻性研究也得出高尿酸水平是研究NAFLD发展的最重要的危险因子, 可以提高对NAFLD认识, 为治疗与预防NAFLD提供帮助。关于胆结石与NAFLD关系的研究较少, 意大利的一项研究^[14]提示, 胆结石与肥胖、高脂血症、高肝功水平、糖尿病、高血糖等相关, NAFLD与胆结石互为危险因素。Ruhl等^[15]认为NAFLD与胆囊切除有关, 而与胆囊结石无关。本研究结果显示高尿酸血症、肝功能异常、胆结石可能是NAFLD的危险因素, 由于我们的调查多来自矿区地面工作人员, 数据来源有限, 可能有一定的局限性, 有待今后进一步探讨。

总之, 通过对矿区NAFLD的调查, 我们初步了解了矿区NAFLD的患病率以及主要的危险因素。通过健康教育、倡导平衡膳食、加强体育锻炼、制定定期体检制度等干预措施, 把

NAFLD的危害降到最低。

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010版). 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- 2 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南(2010版). 中华高血压杂志 2010; 9: 701-742
- 3 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010版). 中国糖尿病杂志 2012; 20: 51-98
- 4 范建高, 朱军, 李新建, 李锐, 戴菲, 宋晓敏, 陈兰, 李锋, 陈世耀. 上海市成人脂肪肝患病率及其危险因素流行病学调查. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 83-88
- 5 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- 6 林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉. 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1114-1119
- 7 刘安楠, 朱玲, 潘杰, 宋月华, 张铁梅. 北京地区体检人群脂肪肝患病率及危险因素分析. 胃肠病学与肝病杂志 2009; 18: 357-359
- 8 Lv WS, Sun RX, Gao YY, Wen JP, Pan RF, Li L, Wang J, Xian YX, Cao CX, Zheng M. Nonalcoholic fatty liver disease and microvascular complications in type 2 diabetes. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3134-3142 [PMID: 23716995 DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.3134]
- 9 Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese adults. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 745-752 [PMID: 16940890]
- 10 曾民德, 王炳元, 陈成伟, 施瑞华, 厉有名, 侯晓华, 宣世英, 邹晓平, 李瑜元, 江家骥, 宋震亚, 范建高, 茅益民. 非酒精性脂肪肝病基本特征及诊疗规范的调查研究. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 362-366
- 11 Rocha R, Cotrim HP, Bitencourt AG, Barbosa DB, Santos AS, Almeida Ade M, Cunha B, Guimarães I. Nonalcoholic fatty liver disease in asymptomatic Brazilian adolescents. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 473-477 [PMID: 19152453 DOI: 10.3748/wjg.15.473]
- 12 李金萍, 丁媛媛, 王炳元, 刘翠香, 谢大伟, 马力, 郑娉娉, 王菲, 孔琪. 东北地区城市脂肪肝的患病率及其危险因素的流行病学调查. 胃肠道病学和肝病杂志 2011; 206: 17-620
- 13 Xu C, Yu C, Xu L, Miao M, Li Y. High serum uric acid increases the risk for nonalcoholic fatty liver disease: a prospective observational study. *PLoS One* 2010; 5: e11578 [PMID: 20644649 DOI: 10.1371/journal.pone.0011578]
- 14 Fracanzani AL, Valenti L, Russello M, Miele L, Bertelli C, Bellia A, Masetti C, Cefalo C, Grieco A, Marchesini G, Fargion S. Gallstone disease is associated with more severe liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2012; 7: e41183 [PMID: 22848440 DOI: 10.1371/journal.pone.0041183]
- 15 Ruhl CE, Everhart JE. Relationship of non-alcoholic fatty liver disease with cholecystectomy in the US population. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 952-958 [PMID: 23545713 DOI: 10.1038/ajg.2013.70]

编辑 田滢 电编 闫晋利



肝恶性肿瘤行规则性肝切除术与不规则肝切除术的相关因素比较

寇昌华, 钱海鑫, 赵子明

■背景资料

肝癌作为当前高发的一种恶性肿瘤疾病, 肝癌根治性切除术是目前应用较为广泛且疗效明确的治疗手段。关于肝癌切除术的术式, 分为规则切除和不规则切除两种, 在这两种术式的优缺点方面一直存在着争议, 明确两种的优缺点具有重要的临床意义。

寇昌华, 钱海鑫, 苏州大学附属第一医院 江苏省苏州市 215006

寇昌华, 徐州市中心医院肿瘤外科 江苏省徐州市 221009

赵子明, 徐州医学院药学院 江苏省徐州市 221000

寇昌华, 主治医师, 主要从事肝胆肿瘤临床治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81102381

作者贡献分布: 寇昌华负责数据搜集、资料整理及论文撰写; 钱海鑫负责实验研究设计与论文审核; 赵子明负责文章中数据的统计分析和核对。

通讯作者: 钱海鑫, 主任医师, 教授, 博士生导师, 215006, 江苏省苏州市十梓街188号, 苏州大学附属第一医院普外科。

kchdoctor@126.com

电话: 18952170535

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-10-14

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-18

Regular versus irregular liver resection for malignant tumors of the liver

Chang-Hua Kou, Hai-Xin Qian, Zi-Ming Zhao

Chang-Hua Kou, Hai-Xin Qian, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Chang-Hua Kou, Department of Oncological Surgery, the Central Hospital of Xuzhou City, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China

Zi-Ming Zhao, College of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, Jiangsu Province China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81102381

Correspondence to: Hai-Xin Qian, Chief Physician, Professor, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. kchdoctor@126.com

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-10-14

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of regular versus irregular liver resection for malignant tumors of the liver.

METHODS: Clinical data for 120 patients who underwent liver resection for malignant tumors of the liver at our hospital from January 2010 to December 2012 were analyzed retrospectively.

RESULTS: The amount of bleeding, the incidence of complications and mortality, and the

length of hospital stay showed no significant differences (all $P > 0.05$) between patients undergoing irregular liver resection and those undergoing regular liver resection. The operative time was significantly longer in the regular liver resection group than in the irregular liver resection group ($221.8 \text{ min} \pm 101.7 \text{ min}$ vs $211.3 \text{ min} \pm 102.6 \text{ min}$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The aesthetic effect of regular liver resection is better than that of irregular liver resection. For patients with small tumors, irregular liver resection is more simple and effective and can achieve radical results. For those patients with cirrhosis, regular liver resection has higher safety. Liver resection strategy should be selected based on the patient's condition to improve effectiveness and safety.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Malignant liver neoplasms; Surgery; Liver resection; Related factors

Kou CH, Qian HX, Zhao ZM. Regular versus irregular liver resection for malignant tumors of the liver. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3566-3570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3566.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3566>

摘要

目的: 探究肝恶性肿瘤两种肝切除手术方式的围手术期相关因素, 比较二者的临床应用优越性, 从而为以后的治疗提高参考依据。

方法: 采取回顾性方法对我院2010-01/2012-12之间收录的120例肝恶性肿瘤肝切除手术患者的临床资料进行分析。

结果: 手术方式与围手术期多因素分析, 两组的出血量、并发症发生率和死亡率以及住院时间比较无明显的差异($P > 0.05$), 无统计学意义。非规则性肝切除术与规则性肝切除手术手术时间分别为 $211.3 \text{ min} \pm 102.6 \text{ min}$ 、 221.8

■同行评议者

麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

min±101.7 min, 规则性肝切除组中手术时间明显地高于非规则性肝切除组中手术时间, 数据的比较具有明显的差异($P<0.05$).

结论: 规则性肝切除的美学效果明显的优于非规则性肝切除的效果, 但是对于肿瘤较小的患者, 实施非规则性肝切除治疗更加简单有效, 并且达到根治的效果, 对于多数伴肝硬化的患者采取规则性肝切除的安全性更高. 临床中应有效地掌握患者的病情状况, 从而正确的采取非规则性肝切除和规则性肝切除治疗, 提高安全性.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝脏恶性肿瘤; 不同术式; 肝切除术; 相关因素

核心提示: 肝恶性肿瘤患者实施肝脏切除手术与患者手术前的肝功能评估有着直接的关系. 临床中对于非规则性肝切除术中, 需要对病灶进行准确的切除, 也需要力求精准. 规则性肝切除的美学效果明显的优于非规则性肝切除的效果.

寇昌华, 钱海鑫, 赵子明. 肝恶性肿瘤行规则性肝切除术与不规则肝切除术的相关因素比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3566-3570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3566>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3566>

0 引言

肝脏恶性肿瘤在临床中属于常见疾病, 临床治疗该病最有效的方法是手术治疗, 但是采取何种手术方式成为医师们关注的重点, 临床中常见的有规则性肝段切除和不规则肝切除, 并且在临床中各自的优点一直存在争议^[1]. 有资料显示, 对于肝脏恶性肿瘤患者实施规则性切除术的没学效果更加明显, 提高整体效果^[2]. 同时, 也有学者认为, 实施非规则切术能够有效地避免相关并发症的发生, 提高治疗的安全性^[3]. 因此, 笔者结合多年的临床治疗工作经验, 对肝恶性肿瘤两种肝切除手术方式的围手术期相关因素进行对比分析, 其目的是有效地找出影响各自的因素, 并更好地指导临床中选择手术方法, 从而提高临床治疗的效果, 具体分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取我院2010-01/2012-12之间收录的120例肝恶性肿瘤肝切除手术患者, 原发性肝癌患者63例, 继发性肝癌患者48例, 肝腺癌患者7例, 肝胚细胞瘤患者2例. 68例规则性

肝切除术, 52例非规则性肝切除术.

1.2 方法 肝功能评估方法: 本次研究的患者均采用Child-Pugh改良分级标准对患者的肝功能进行评估, 主要包括血清胆红素和白蛋白浓度以及凝血酶原时间与腹水、肝性脑病等情况^[2]. A级患者96例, 比例为80.0%; B级患者24例, 比例为20.0%.

统计学处理 数据资料均建立Excel数据库, 并采取SPSS18.0的统计学软件进行数据的分析与处理, 计量资料采取mean±SD进行表示, 并采取 t 进行检验, 组间的数据比较采取 χ^2 进行检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 切除部位比较 通过对规则性肝切除部位与非规则性肝切除部位比较, 规则性肝切除部位主要以左外叶、左半肝、右半肝以及右三叶与左三叶为主. 具体的分布情况如表1. 而非规则性肝切除部位所涉及的肝段切除部位比规则性肝切除的多. 具体的分别情况如表2所示.

2.2 手术方式与围手术期单因素相关性分析 通过对两组手术方式与围手术期相关因素相关性分析, 非规则性肝切除组中超声刀切除、乙型肝炎感染、丙型肝炎感染、切除肝段数目小于三段的比例均明显地高于规则性肝切除组中的情况, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表3). 规则性肝切除组中的输血红细胞、输血量、肿瘤最大直径均明显地高于非规则性肝切除组的情况, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表4).

2.3 手术方式与围手术期多因素分析 通过对手术方式与围手术期多因素分析, 两组的出血量、并发症发生率和死亡率以及住院时间比较无明显的差异, 无统计学意义($P>0.05$). 规则性肝切除组中手术时间明显地高于非规则性肝切除组中手术时间, 具有明显的差异($P<0.05$)(表5).

3 讨论

肝恶性肿瘤是临床中常见的疾病, 临床中常常采取手术治疗. 但是对于手术方式的选择一直是临床医师们关注的重点. 临床中有资料显示, 规则性肝切除术中的出血量和术后并发症发生率明显要较非规则性肝切除术的出血量和术后并发症发生率少, 而且有效的降低肿瘤的复发^[5,6]. 但是临床中也有资料显示, 非规则性肝切除术中能够有效的降低术后死亡情况^[7,8]. 因此, 如何选取正确的肝切除方式成为医师们关注的重点.

■ 研发前沿

通过对两种不同的肝脏切除术式的对比, 分析两种术式的优缺点和适用人群, 将能有效提高手术成功率和提高患者术后的康复质量.

■ 相关报道

临床中有资料显示, 规则性肝切除术中的出血量和术后并发症发生率明显的要较非规则性肝切除术的出血量和术后并发症发生率少, 而且有效的降低肿瘤的复发. 但是临床中也有资料显示, 非规则性肝切除术中能够有效的降低术后死亡情况. 因此对比两种术式的临床特点是很必要的.

■创新盘点

对患者接受的术式和肝脏功能之间的关系进行分析,以较为科学的方法探讨两种术式之间的异同之处。

表 1 规则性肝切除部位分布

部位	<i>n</i>	比例(%)
左外叶	12	17.6
左半肝	9	13.2
右半肝	8	11.8
右三叶	7	10.3
左三叶	6	8.9
I 段	5	7.4
II 段	4	5.9
III 段	4	5.9
IV 段	3	4.4
V 段	3	4.4
VI 段	3	4.4
VII 段	2	2.9
VIII 段	2	2.9
合计	68	100.0

表 2 非规则性肝切除部位分布

部位	<i>n</i>	比例(%)
右后叶	8	15.4
右半肝	7	13.5
左外叶	3	5.8
左半肝	3	5.8
右前叶	3	5.8
中肝	2	3.8
扩大左半肝	2	3.8
扩大右半肝	2	3.8
弥漫多发	1	1.9
I 段	3	5.8
II 段	3	5.8
III 段	3	5.8
IV 段	3	5.8
V 段	3	5.8
VI 段	2	3.8
VII 段	2	3.8
VIII 段	2	3.8
合计	52	100.0

通过本次的临床研究分析,肝恶性肿瘤患者实施肝脏切除手术与患者手术前的肝功能评估有着直接的关系。本组的资料显示,规则性肝切除组与非规则性肝切除组的出血量、并发症发生率和死亡率以及住院时间比较无明显的统计学意义($P>0.05$)。规则性肝切除组中手术时间明显高于非规则性肝切除组中手术时间,数据的比较具有明显差异($P<0.05$)。由此分析,规则性肝切除延长了患者手术治疗的时间,但是对于其他的围手术期因素比较无明显的差异。主要

表 3 手术方式与围手术期相关因素相关性分析

指标	非规则/ 规则性肝切除	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别		0.24	>0.05
男	34/37		
女	18/29		
是否有腹部手术史		0.25	>0.05
是	19/20		
否	33/48		
是否再次切除		0.34	>0.05
是	20/27		
否	32/39		
是否超声刀切除		7.36	<0.05
是	36/12		
否	16/56		
是否输全血		0.22	>0.05
是	24/31		
否	28/37		
Child-Pugh 分级		0.51	>0.05
A 级	40/56		
B 级	12/12		
乙型肝炎表面抗原		7.47	<0.05
阳性	35/13		
阴性	17/55		
丙型肝炎抗体		7.21	<0.05
阳性	38/15		
阴性	14/53		
是否肿瘤残余		0.35	>0.05
是	26/32		
否	26/36		
切除肿瘤数目		0.45	>0.05
单发	17/20		
多发	35/48		
是否淋巴结清扫		0.27	>0.05
是	24/32		
否	28/36		
是否 ≥ 3 段切除		8.24	<0.05
是	11/35		
否	41/33		
失血量(mL)		0.22	>0.05
≥ 1000	22/30		
<1000	30/38		
是否并发症		0.16	>0.05
是	23/32		
否	29/36		
是否死亡		0.11	>0.05
是	1/2		
否	51/66		

是由于随着临床中治疗水平的发展,值得规则性肝切除与非规则性肝切除的手术操作方法越来越成熟,从而有效地缩短二者之间的差异^[9,10]。

■应用要点

目前关于肝癌根治切除术的术式的优缺点均存在着一定的争议。规则切除和非规则切除各有利弊,本研究探讨两者之间的适用范围和特点,能够为肝癌的外科治疗提供参考。

表 4 手术方式与围手术期相关因素相关性分析

指标	手术方式	数据	t值	P值
年龄(岁)	非规则性肝切除	48.5 ± 12.2	0.2414	>0.05
	规则性肝切除	47.7 ± 11.8		
出血量(mL)	非规则性肝切除	757.5 ± 113.6	0.1241	>0.05
	规则性肝切除	773.7 ± 120.4		
手术时间(min)	非规则性肝切除	211.3 ± 102.6	1.6012	>0.05
	规则性肝切除	221.8 ± 101.7		
输血量(mL)	非规则性肝切除	43.6 ± 12.7	9.3011	<0.05
	规则性肝切除	77.6 ± 23.8		
输红细胞量(mL)	非规则性肝切除	84.7 ± 24.4	7.2311	<0.05
	规则性肝切除	105.8 ± 32.8		
肿瘤最大直径(cm)	非规则性肝切除	6.4 ± 2.4	8.4124	<0.05
	规则性肝切除	9.8 ± 3.4		
住院时间(d)	非规则性肝切除	25.5 ± 11.4	1.1341	>0.05
	规则性肝切除	25.8 ± 10.7		

表 5 手术方式与围手术期多因素分析

指标	非规则性肝切除组	规则性肝切除组	P值
手术时间(min)	211.3 ± 102.6	221.8 ± 101.7	<0.01
住院时间(d)	25.5 ± 11.4	25.8 ± 10.7	>0.05
出血量(mL)	757.5 ± 113.6	773.7 ± 120.4	>0.05
死亡率n(%)	1(1.9)	2(2.9)	>0.05
并发症发生率n(%)	23(44.2)	32(47.1)	>0.05

但是临床中对于非规则性肝切除术中, 需要对病灶进行准确的切除, 也需要力求精准^[11,12]。临床中资料分析, 规则性肝切除的美学效果明显优于非规则性肝切除的效果^[13,14]。

总之, 临床中对于肝恶性肿瘤患者采取规则性肝切除和非规则性肝切除均是可行的。规则性肝切除的美学效果明显优于非规则性肝切除的效果, 但是对于肿瘤较小的患者, 实施非规则性肝切除治疗更加简单有效, 并且达到根治的效果, 对于多数伴肝硬化的患者采取规则性肝切除的安全性更高^[15]。因此, 临床中对于应有效地掌握患者的病情状况, 从而正确的采取非规则性肝切除和规则性肝切除治疗, 提高安全性。

4 参考文献

1 冯志强, 张洪义, 肖梅, 黄志强, 刘荣, 张宏义, 黄晓强, 徐新保, 张辉, 甄玉英. 肝恶性肿瘤两种肝切除手术方式围手术期相关因素的对比研究. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 234-235

2 冯志强, 肖梅, 张洪义, 黄志强, 徐立宁, 张辉, 张宏义, 甄玉英. 原发性肝癌规则与非规则性肝切除手术式探讨. 中国实用外科杂志 2012; 32: 334-335

3 Benzon E, Lorenzin D, Favero A, Adani G, Bac-

carani U, Molaro R, Zompicchiatti A, Saccomano E, Avellini C, Bresadola F, Uzzau A. Liver resection for hepatocellular carcinoma: a multivariate analysis of factors associated with improved prognosis. The role of clinical, pathological and surgical related factors. *Tumori* 2007; 93: 264-268 [PMID: 17679461]

4 王建国, 刘剑勇. 肝细胞肝癌手术中的规则性与非规则性肝切除的临床观察. 广西医学 2010; 32: 314-315

5 安东均, 安琳, 张成, 门定坤. 精准肝切除与非规则性肝切除治疗肝癌的疗效分析. 中国普通外科杂志 2011; 20: 341-342

6 叶甲舟, 吴飞翔, 赵荫农, 黎乐群, 游雪梅. 规则性肝切除与非规则性肝切除术后肝癌肝内复发的比较: Meta分析. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 452-453

7 朱新华, 仇毓东, 吴亚夫, 周建新, 徐庆祥, 丁义涛. 规则性肝切除术治疗原发性肝癌的分析. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3305-3309

8 安东均. 精准肝切除与非规则性肝切除治疗肝癌59例疗效分析. 全国临床医学新进展学术交流会, 2011

9 徐雷, 金雷, 由奎一. 严重肝外伤肝脏规则性和非规则性切除方法的比较. 黑龙江医学 2002; 26: 176

10 陆海军. 非规则性肝切除手术治疗原发性肝癌25例. 中国中医药现代远程教育 2010; 8: 115

11 刘大伟, 温春娟. 规则性和非规则性肝切除在严重肝外伤中的应用体会. 伤残医学杂志 2001; 9: 49-50

12 曹明溶, 劳学军, 龚瑾, 梁忠平. 原发性肝癌手术切除300例分析. 暨南大学学报(自然科学与医学版) 2006; 27: 279-283

13 Ochiai T, Sonoyama T, Kikuchi S, Okayama T, Konishi H, Kitagawa M, Tagi T, Ueda Y, Otsuji

■名词解释
规则性肝切除术: 主要是指肝段切除、肝叶切除、半肝切除、肝三叶切除等; 非规则性肝切除术: 主要是指肝局部切除。

■同行评价

本文结合实际临床问题, 并有针对性的分析肝恶性肿瘤实施规则切除术与非规则切除术的优越性, 能够更准确的指导临床医师进行操作。同时, 文章缺少大型的临床研究, 从而更好地得出结论。

E. Anatomic wide hepatectomy for treatment of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 563-569 [PMID: 17457610 DOI: 10.1007/s00432-007-0205-1]

- 14 彭杏芳. 两种不同肝叶切除术在肝胆管结石手术中的疗效观察. *中外医学研究* 2012; 11: 126
- 15 郑飞, 周文平. 规则性和非规则性肝叶切除术对肝胆管结石病的疗效比较. *按摩与康复医学(下旬刊)* 2012; 3: 20

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)

早期内镜下逆行胆胰管造影治疗急性胆源性胰腺炎的安全性和有效性评价

崔建华, 徐康, 赵昌杰, 陈林

崔建华, 徐康, 赵昌杰, 陈林, 江苏省东台市人民医院消化内科 江苏省东台市 224200

崔建华, 副主任医师, 主要从事消化内科的研究。

作者贡献分布: 此文章由崔建华撰写; 徐康、赵昌杰及陈林共同参与完成。

通讯作者: 崔建华, 副主任医师, 224200, 江苏省东台市东台镇康西路2号, 江苏省东台市人民医院消化内科。

jinjin9387@126.com

电话: 0515-5253998

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-18

Safety and efficacy of early endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of acute biliary pancreatitis

Jian-Hua Cui, Kang Xu, Chang-Jie Zhao, Lin Chen

Jian-Hua Cui, Kang Xu, Chang-Jie Zhao, Lin Chen, Department of Gastroenterology, Dongtai People's Hospital, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jian-Hua Cui, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongtai People's Hospital, 2 Kangfu West Road, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China. jinjin9387@126.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To evaluate the safety and efficacy of early endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in treatment of acute biliary pancreatitis.

METHODS: One hundred and five patients with acute biliary pancreatitis treated at our hospital from January 2008 to December 2012 were randomly divided into either a control group ($n = 52$) or a test group ($n = 53$). The control group underwent conventional basic treatment, and the test group underwent early ERCP. APACHEII score and Ranson score were recorded. Inflammatory factors were detected. Postoperative morbidity and mortality were compared.

RESULTS: The APACHEII score and Ranson

score after admission were significantly lower in the test group than in the control group (6.4 ± 2.1 vs 9.8 ± 3.8 , 2.1 ± 0.9 vs 2.6 ± 1.1 , both $P < 0.05$). The levels of inflammatory factors after treatment were also significantly lower in the test group than in the control group (TNF- α : $55.6 \mu\text{g/L} \pm 16.8 \mu\text{g/L}$ vs $230.4 \mu\text{g/L} \pm 33.1 \mu\text{g/L}$; CRP: $7.6 \text{ mg/dL} \pm 2.5 \text{ mg/dL}$ vs $11.1 \text{ mg/dL} \pm 2.7 \text{ mg/dL}$, both $P < 0.05$). The times required for serum amylase to return to normal, relief of abdominal pain, recovery of liver function and hospital stay were significantly lower in the test group than in the control group ($8.2 \text{ d} \pm 2.2 \text{ d}$ vs $11.8 \text{ d} \pm 4.2 \text{ d}$, $7.2 \text{ d} \pm 2.4 \text{ d}$ vs $11.2 \text{ d} \pm 3.1 \text{ d}$, $12.6 \text{ d} \pm 4.4 \text{ d}$ vs $23.4 \text{ d} \pm 6.1 \text{ d}$, $16.6 \text{ d} \pm 4.8 \text{ d}$ vs $24.5 \text{ d} \pm 6.7 \text{ d}$, all $P < 0.05$). The rate of postoperative complications was significantly lower in the test group than in the control group (9.43% vs 25.00% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Early ERCP is safe and effective in the treatment of acute biliary pancreatitis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatitis; Gallstones; Acute; Retrograde; Cholangiopancreatography; Endoscopic

Cui JH, Xu K, Zhao CJ, Chen L. Safety and efficacy of early endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of acute biliary pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3571-3575 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3571>

摘要

目的: 探讨和评价早期行内镜下逆行胆胰管造影治疗急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)的安全性和有效性。

方法: 选择2008-01/2012-12于我院就诊的105例ABP患者, 随机分为实验组53例和对照组52例。对照组采用常规基础治疗, 实验组早期行治疗性内镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde

■背景资料

急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)是常见的胰腺炎类型之一, 如果处理不当会进展为重症急性胰腺炎, 病情危重, 死亡率高。急性胆源性胰腺炎多由胆道结石、蛔虫等胆道疾病引起, 其治疗关键就是尽快消除病因, 彻底引流胆汁和胰液, 保护脏器功能。以往多采用内科保守治疗或者外科急诊开腹手术治疗, 而近年来采用治疗性内镜逆行胆胰管造影和在此基础上进行的内镜下乳头肌切开术以及经内镜鼻胆管引流术也在治疗ABP中取得了较好的疗效。

■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

■研究前沿

传统的治疗方案是先进行内科保守治疗,待患者病情好转后再开腹解除壶腹部的梗阻,但是手术创伤较大,并发症较大。

cholangio-pancreatography, ERCP)。统计两组患者入院时和入院后的APACHE II评分和Ranson评分。观察患者入院时和入院后的血清炎症因子水平等指标。统计两组术后并发症发生率和死亡率。

结果: 入院后实验组APACHE II评分是 6.4 ± 2.1 分, Ranson评分是 2.1 ± 0.9 分, 对照组分别是 9.8 ± 3.8 分和 2.6 ± 1.1 分, 实验组入院后的APACHE II评分和Ranson评分低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组治疗后的炎症因子均低于对照组, 差异有统计学意义(TNF- α : $55.6 \mu\text{g/L} \pm 16.8 \mu\text{g/L}$ vs $230.4 \mu\text{g/L} \pm 33.1 \mu\text{g/L}$; CRP: $7.6 \text{ mg/dL} \pm 2.5 \text{ mg/dL}$ vs $11.1 \text{ mg/dL} \pm 2.7 \text{ mg/dL}$, 均 $P < 0.05$)。实验组血清淀粉酶恢复正常时间(d)、腹痛缓解时间(d)、肝功能恢复时间(d)和住院时间(d)均低于对照组, 差异有统计学意义($8.2 \text{ d} \pm 2.2 \text{ d}$ vs $11.8 \text{ d} \pm 4.2 \text{ d}$, $7.2 \text{ d} \pm 2.4 \text{ d}$ vs $11.2 \text{ d} \pm 3.1 \text{ d}$, $12.6 \text{ d} \pm 4.4 \text{ d}$ vs $23.4 \text{ d} \pm 6.1 \text{ d}$, $16.6 \text{ d} \pm 4.8 \text{ d}$ vs $24.5 \text{ d} \pm 6.7 \text{ d}$, 均 $P < 0.05$)。实验组术后并发症发生率低于对照组(9.43% vs 25.00%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 早期行内镜下逆行胆胰管造影治疗ABP安全有效。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺炎; 胆结石; 急性; 逆行胆胰管造影; 内镜

核心提示: 本实验中, 实验组从评分改善、炎症控制、症状和脏器功能保护等方面均优于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。目前认为, 早期内镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography)并不能减少患者的病死率, 但是可以减少胆源性胰腺炎的并发症。本次研究中, 实验组的并发症发生率低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明早期行内镜治疗可以尽早解除梗阻, 减少并发症。

崔建华, 徐康, 赵昌杰, 陈林. 早期内镜下逆行胆胰管造影治疗急性胆源性胰腺炎的安全性和有效性评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3571-3575 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3571>

0 引言

急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)是常见的胰腺炎类型之一, 如果处理不当会进展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreati-

tis, SAP), 病情危重, 死亡率高^[1]。急性胆源性胰腺腺多由胆道结石、蛔虫等胆道疾病引起, 其治疗关键就是尽快消除病因、彻底引流胆汁和胰液、保护脏器功能^[2]。以往多采用内科保守治疗或者外科急诊开腹手术治疗, 而近年来采用治疗性内镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)和在ERCP基础上进行的内镜下乳头肌切开术(endoscopic stone extraction technique, EST)以及经内镜鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)也在治疗ABP中取得了较好的疗效。为了评价早期行治疗性ERCP治疗ABP患者的疗效和安全性, 我科2008-01/2012-12对收治的105例ABP患者分别采取了传统开腹手术和早期行治疗性ERCP两种方法, 结果报道如下:

1 材料和方法

1.1 材料 采用前瞻性随机对照实验, 将2008-01/2012-01收治的105例ABP患者, 按照随机数字法分为对照组和实验组。对照组52例, 男16例, 女36例, 年龄25-75岁, 平均 45.8 ± 13.4 岁。实验组53例, 男17例, 女36例, 年龄26-74岁, 平均 46.3 ± 14.3 岁。所有患者均符合入选患者参照中华医学会外科学分会胰腺学组ABP诊治原则草案诊断标准^[3]: (1)急性上腹部疼痛伴恶心呕吐和腹胀; (2)上腹部压痛和反跳痛; (3)血清、尿淀粉酶升高至正常值的3倍以上, 血脂肪酶升高至正常值的3倍以上; (4)肝功能检查提示丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(glutamyl endopeptidase, GGT)增高和/或胆红素增高; (5)超声、CT或磁共振胆胰管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查提示胆管扩张和/或胆管结石和/或胆囊结石等胆道系统疾病。胰腺炎的严重程度诊断参照急性生理及慢性健康评分II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)的标准^[4], 轻型胰腺炎的APACHE II评分 < 8 , 重型胰腺炎的APACHE II评分 ≥ 8 。排除标准^[5]: 其他原因(酒精性、高血脂、高血钙等)引起的胰腺炎; 合并严重的心肺或肾功能不全无法行ERCP者。对照组轻型胰腺炎41例, 重型胰腺炎11例。实验组轻型胰腺炎41例, 重型胰腺炎12例。两组在年龄、性别、诱因和病情轻重等方面显著无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

表 1 两组患者入院前后APACHE II评分和Ranson评分比较 (分, mean \pm SD)

分组	时间	APACHE II评分	Ranson评分
对照组($n = 52$)	入院时	14.4 \pm 4.1	2.9 \pm 1.2
	入院后	9.8 \pm 3.8 ^a	2.6 \pm 1.1
实验组($n = 53$)	入院时	14.5 \pm 4.3	2.9 \pm 1.3
	入院后	6.4 \pm 2.1 ^{ac}	2.1 \pm 0.9 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 本组入院前; ^c $P < 0.05$ vs 同期对照组.

1.2 方法

1.2.1 对照组: 对照组患者入院后均行禁食和胃肠减压, 胃肠外营养. 建立静脉通道, 维持水电解质和酸碱平衡, 抑制胃酸和胰酶分泌, 应用头孢、甲硝唑等抗菌药物预防和控制感染等常规内科治疗. 当患者病情好转后行开腹手术解除梗阻, 当病情无改善或恶化出现胰周感染、急性胆管炎、早期休克等严重并发症时行急诊开腹手术.

1.2.2 实验组: 实验组在行常规内科治疗的基础上在起病后早期(24-48 h)行治疗性ERCP. 患者术前吸氧、监测心电图, 肌注50 mg盐酸哌替啶、10 mg地西泮和0.3 mg盐酸山莨菪碱. 行ERCP确定胆总管梗阻部位、病变性质、结石数量和大小及程度, 根据ERCP检查结果选择不同的术式. 胆总管结石或胆管扩张行EST, 对于较大的结石采用内镜下胆道碎石取石术, 对于结石较小且数量少(少于6枚), 或乳头周围有巨大憩室, 或有出血倾向者, 采用内镜下行EPBD, 术后行ENBD. 结石较大取石困难或全身情况较差者, 先行ENBD, 待一般情况好转后再次行内镜下取石治疗. 术后仍继续常规内科治疗.

1.2.3 观察指标: 统计两组患者入院时和入院后72 h的APACHE II评分, 入院时和入院后48 h的Ranson评分^[5]. 统计患者入院时和治疗后7 d的血清炎症因子包括肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和血清C反应蛋白(C reactive protein, CRP)的水平. ELISA法测定TNF- α , 免疫比浊法测定CRP^[6]. 比较2组患者的从入院到治疗至血清淀粉酶恢复正常、腹痛缓解、肝功能恢复的时间和住院时间, 统计两组患者并发症发生率和死亡率.

统计学处理 采用SPSS16.0进行统计学分析, 计量资料采用mean \pm SD表示, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验, 计量资料组间比较采用两独立样本 t 检验, 组内比较采用配对 t 检验, 检验标准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 入院前后APACHE II评分和Ranson评分比较 两组入院时APACHE II评分和Ranson评分相比差异无统计学意义($P > 0.05$), 入院后实验组APACHE II评分是6.4分 \pm 2.1分, Ranson评分是2.1分 \pm 0.9分, 对照组分别是9.8分 \pm 3.8分和2.6分 \pm 1.1分, 实验组入院后的APACHE II评分和Ranson评分低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

2.2 两组治疗前后炎症因子比较 两组入院时炎症因子比较相比差异无统计学意义($P > 0.05$). 治疗后实验组TNF- α 和CRP分别为55.6 μ g/L \pm 16.8 μ g/L和7.6 mg/dL \pm 2.5 mg/dL, 对照组分别是143.4 μ g/L \pm 21.7 μ g/L和11.5 mg/dL \pm 3.5 mg/dL. 实验组治疗后的炎症因子均低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.3 两组患者治疗结果比较 实验组血清淀粉酶恢复正常时间、腹痛缓解时间、肝功能恢复时间和住院时间均低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

2.4 实验组与对照组术后并发症和死亡情况对比 治疗过程中, 对照组出现2例假性囊肿, 3例胆瘘, 1例胰周脓肿, 4例肝肾功能衰竭, 3例黏连性肠梗阻, 其中1例因胰周脓肿合并多器官功能障碍死亡, 3例因肝肾功能衰竭死亡, 并发症发生率为25.00%(13/52), 死亡率7.69%(4/52). 实验组1次取石成功46例, 3例患者结石过大, 4例患者结石过多而先行EBND再行EST取石; 实验组均未出现中转开腹情况, 出现2例假性囊肿, 1例胆道出血(保守治疗痊愈), 2例肝肾功能衰竭, 其中2例因肝肾功能衰竭死亡, 并发症发生率为9.43%(5/53), 死亡率3.77%(2/53). 实验组术后并发症发生率对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表4).

3 讨论

近年来, 随着社会经济的发展, ABP的发病率不

■ 相关报道

以往认为急性胰腺炎是内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的禁忌证, 而且急性胰腺炎也是ERCP的术后并发症之一. 但是随着近年来内镜技术的提高, Neoptolemos等国内外许多学者报道治疗性ERCP可以迅速缓解病情, 解除胆道梗阻, 治疗成功率可达到90%以上.

■创新盘点

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)是目前公认的诊断胰胆管疾病的“金标准”。ERCP可以迅速明确病因,发现梗阻部位,而且动态直观,不受肠道气体的干扰,具有较高的诊断价值,诊断敏感性要高于超声、CT等。

表 2 两组患者治疗前后炎症因子比较 (mean \pm SD)

分组	时间	TNF- α (μ g/L)	CRP(mg/dL)
对照组	入院时	225.6 \pm 34.4	10.9 \pm 2.1
	治疗后	143.4 \pm 21.7 ^a	11.5 \pm 3.5
实验组	入院时	230.4 \pm 33.1	11.1 \pm 2.7
	治疗后	55.6 \pm 16.8 ^{ac}	7.6 \pm 2.5 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 本组入院前; ^c $P < 0.05$ vs 同期对照组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; CRP: C反应蛋白.

表 3 两组患者治疗结果比较 (d, mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	血清淀粉酶恢复 正常时间(d)	腹痛缓解 时间(d)	肝功能恢复 时间(d)	住院 时间(d)
对照组	52	11.8 \pm 4.2	11.2 \pm 3.1	23.4 \pm 6.1	24.5 \pm 6.7
实验组	53	8.2 \pm 2.2 ^a	7.2 \pm 2.4 ^a	12.6 \pm 4.4 ^a	16.6 \pm 4.8 ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 4 实验组与对照组术后并发症和死亡情况对比 *n*(%)

分组	<i>n</i>	假性 囊肿	胆瘘	胰周 脓肿	胆道 出血	肝肾功 能衰竭	黏连性 肠梗阻	并发症 发生率
对照组	52	2(3.85)	3(5.77)	1(1.92)	0(0.00)	4(7.69)	3(5.77)	13(25.00)
实验组	53	2(3.77)	0(0.00)	0(0.00)	1(1.89)	2(3.77)	0(0.00)	5(9.43) ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

断上升^[7], 约占急性胰腺炎的一半以上^[7]. 胆道和胰腺具有共同分泌通道, 当胆结石、蛔虫等向下运动阻塞了胆总管远端Vater壶腹部时, 会阻塞共同通道, 造成胆汁反流, 当胆汁淤积至一定程度时, 胆管压力大于胰管压力时, 造成胰液反流, 导致胰腺自身消化^[8]. 而且共同通道梗阻持续时间与ABP的严重程度和预后关系密切, 梗阻时间在24 h以内时胰腺的病变基本是可逆的, 当梗阻时间在24-48 h胰腺可见出血坏死灶, 而超过48 h胰腺就会广泛出血坏死, 所以早期解除梗阻可以迅速缓解病情^[9]. 以往认为急性胰腺炎是ERCP的禁忌证, 而且急性胰腺炎也是ERCP的术后并发症之一. 但是随着近年来内镜技术的提高, 赵登秋等^[10]国内外许多学者报道治疗性ERCP可以迅速缓解病情, 解除胆道梗阻, 治疗成功率可达到90%以上.

传统的治疗方案是先进行内科保守治疗, 待患者病情好转后再开腹解除壶腹部的梗阻, 但是手术创伤较大, 并发症较大. ERCP是目前公认的诊断胰胆管疾病的“金标准”^[11]. ERCP可

以迅速明确病因, 发现梗阻部位, 而且动态直观, 不受肠道气体的干扰, 具有较高的诊断价值, 诊断敏感性要高于超声、CT等^[12]. 治疗性ERCP则是指在ERCP的诊断基础上行十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)和ENBD等. 对于结石梗阻患者行EST减轻胰胆管压力, 解除梗阻, 引流胆汁, 改善病情^[13]. 无法行EST的患者先行ENBD引流, 再择期行EST取石. 本实验中, 实验组从评分改善、炎症控制, 症状和脏器功能保护等方面均优于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 目前认为, 早期ERCP并不能减少患者的病死率, 但是可以减少胆源性胰腺炎的并发症^[14]. 本次研究中, 实验组的并发症发生率低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明早期行内镜治疗可以尽早解除梗阻, 减少并发症. ABP患者同时发生胆管和胰腺的病变, 释放大炎症因子, 此时开腹手术虽然可以解除梗阻, 但是手术会进一步加重炎症反应, 造成全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征, 所以在胆源性胰腺炎发病2 wk内应该尽量避免

开腹手术, 而早期内镜治疗既缩短了患者住院时间, 减少了手术并发症, 还能促进患者恢复. 在早期行ERCP需要专业内镜医师来操作, 而且要注意注射造影剂的剂量及速度, 避免增加胰管压力, 加重病情^[15].

总之, 早期行ERCP治疗ABP可以迅速解除梗阻, 改善病情, 促进患者恢复, 而且并不会增加术后并发症的风险.

4 参考文献

- 1 张力峰, 黄波, 樊献军, 谭黄业, 韦小波. 经内镜乳头括约肌切开(EST)治疗胆总管结石326例临床分析. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 664-666
- 2 宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田字彬, 张琪. ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1724-1727
- 3 杜慎华. 急性胆源性胰腺炎两种外科治疗方法的疗效对比. 中国老年学杂志 2012; 32: 250-252
- 4 Zhou Y, Zhang X, Zhang X, Guo Y, Lu W, Li J, Li Z. ERCP in acute cholangitis during third trimester of pregnancy. *Hepatogastroenterology* 2013 Feb 20. [Epub ahead of print] [PMID: 23425808 DOI: 10.5754/hge121258]
- 5 张文杰, 陶怡菁, 全志伟. ERCP术后胰腺炎的预防. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 670-672
- 6 Tse F, Yuan Y. Early endoscopic retrograde cholangiopancreatography in acute biliary pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 450 [PMID: 23459049 DOI: 10.1038/ajg.2012.432]
- 7 秦向荣, 薛乐宁, 王强, 范志宁, 王翔. 胰管支架预防困难ERCP术后胰腺炎及高淀粉酶血症的疗效观察. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 210-211
- 8 李彩丽, 魏刚, 阮鹏, 陈珺, 王斌, 徐少勇, 孙泽群. 急性特发性胰腺炎保守及内镜下乳头肌切开手术治疗比较分析. 中华消化杂志 2010; 30: 781-782
- 9 吴璟奕, 费健, 毛恩强, 汤耀卿, 张圣道. 急性胰腺炎994例病因与治疗分析. 中华胰腺病杂志 2010; 10: 231-234
- 10 赵登秋, 程邦君, 汤建燕, 熊强, 郭叶锋, 周龙翔. 外科手术治疗急性胰腺炎165例. 中华内分泌外科杂志 2012; 6: 211-212
- 11 吴东方, 郝建宇, 于剑锋, 郎海波. 治疗性内镜下逆行胰胆管造影术在高龄患者中的应用. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 177-178
- 12 王敏, 文卫, 缪林, 蒋国斌. 逆行胰胆管造影治疗80岁以上老年人胆胰疾病的临床观察. 中华老年医学杂志 2009; 28: 280-282
- 13 左罗, 王春晖, 杨锦林, 吴浩, 杨帆, 张铭光, 唐承薇. 临床路径在胆源性急性胰腺炎病因诊断中的作用. 中华内科杂志 2012; 51: 104-107
- 14 Phisalprapa P, Prachayakul V. Ascariasis as an unexpected cause of acute pancreatitis with cholangitis: a rare case report from urban area. *JOP* 2013; 14: 88-91 [PMID: 23306343 DOI: 10.6092/1590-8577/1257]
- 15 胡兵, 陈平, 牟一, 王春辉, 康焰, 金小东, 唐承薇. ICU内无X线引导下内镜介入治疗急性重症胆源性胰腺炎的临床观察. 中华消化内镜杂志 2012; 23: 36-37

■同行评价

本研究选题实用, 结论可靠, 有一定的学术参考意义.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

结肠憩室病的临床及X线分析31例

莫洪波

■背景资料

结肠憩室病好发于中老年人, 临床误诊率较高。结肠憩室病, 国内报道甚少, 气钡灌肠双重造影报道更少。结肠憩室病未发展为憩室炎或炎症轻微, 未做检查而未被发现。气钡灌肠为最有效的检查方法。

莫洪波, 广西科技大学第二附属医院(广西柳州肿瘤医院)放射科 广西壮族自治区柳州市 545006

莫洪波, 副主任医师, 主要从事医学影像CT诊断及MRI诊断。

作者贡献分布: 本文由莫洪波独立完成。

通讯作者: 莫洪波, 副主任医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市箭盘路17号, 广西科技大学第二附属医院放射科。13978076392@163.com

收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-09-14

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-18

Clinical and X-ray features of diverticulosis of the colon: Analysis of 31 cases

Hong-Bo Mo

Hong-Bo Mo, Radiology Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Guangxi Liuzhou Tumor Hospital, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Hong-Bo Mo, Associate Chief Physician, Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Guangxi Liuzhou Tumor Hospital, 17 Jianpan Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 13978076392@163.com

Received: 2013-06-25 Revised: 2013-09-14

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To summarize the clinical and X-ray features of diverticulosis of the colon.

METHODS: Clinical and X-ray data for 31 patients with diverticulosis of the colon who were diagnosed and underwent a double-contrast barium enema at our hospital from 2000 to 2011 were analyzed retrospectively.

RESULTS: Among the 31 cases, the eldest was 85 years old, and the youngest was 40 years. The average age was 63. Pathological changes in 15 cases were confined to the ascending colon, and involved the cecum and the ascending colon in 7 cases, the cecum, the ascending colon and the transverse colon in 5 cases, and the whole colon in 4 cases. Fourteen cases had diverticulitis.

CONCLUSION: The middle-aged and the elderly are prone to develop diverticulosis of the

colon, mostly on the right-side, and with diverticulitis. The double contrast barium enema is a useful method for detection of diverticulosis of the colon.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diverticulosis of colon; Diverticulitis; Double contrast barium enema

Mo HB. Clinical and X-ray features of diverticulosis of the colon: Analysis of 31 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3576-3579 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3576.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3576>

摘要

目的: 探讨结肠憩室病的临床及气钡灌肠双重造影的表现。

方法: 回顾分析我院2000-2011年气钡灌肠双重造影发现31例结肠憩室病的临床及X线资料。

结果: 本组共31例, 最大年龄85岁, 最小年龄40岁, 平均63岁。15例病变局限于升结肠, 7例侵及盲肠及升结肠, 5例侵及盲肠、升结肠及横结肠, 4例侵及全结肠。合并憩室炎共14例。

结论: 结肠憩室病好发于中老年人, 右半结肠多见, 易并发憩室炎。为提高结肠憩室病检出率, 控制炎症发展, 减少憩室炎并发症的出现, 气钡灌肠双重造影为有效的检查方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠憩室; 憩室炎; 气钡灌肠双重造影

核心提示: 结肠憩室病发病率逐年增高, 且随着年龄的增长而增加。大多数结肠憩室为亚临床型而被忽视。我国逐步进入老年化社会的时代, 结肠憩室病发病率日益增高, 我们要提高认识, 减少误诊与漏诊, 提高结肠憩室病检出率, 控制炎症发展, 减少憩室炎并发症的出现。

■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

莫洪波. 结肠憩室病的临床及X线分析31例. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3576-3579 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3576.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3576>

0 引言

结肠憩室病好发于中老年人, 无特异性临床症状, 临床表现上难与其他结肠疾病相鉴别, 临床误诊率较高^[1]. 结肠憩室病, 国外发病率较高, 文献报道较多. 而国内因发病率较低, 报道甚少, 气钡灌肠双重造影报道更少. 本文收集我院2000-2011年经气钡灌肠造影400多例, 发现结肠憩室病例共31例, 检出率0.8%, 其中15例病变局限于升结肠, 有7例侵及盲肠及升结肠, 有5例侵及盲肠、升结肠及横结肠, 4例侵及全结肠. 合并憩室炎14例, 现就其临床及X线资料进行回顾性总结分析, 以提高对本病的认识.

1 材料和方法

1.1 材料 我院2000-2011年共有400多例行钡灌肠检查, 发现结肠憩室病例共31例, 最大年龄85岁, 最小年龄40岁, 平均63岁, 男21女10. 腹胀15例、腹痛11例、腹泻7例, 便秘5例, 上述症状单独或同时存在, 其中2例症状较重, 发病时间分别长达10余年, 另5例症状轻微, 发病时间为3-10 d, 都通过气钡灌肠造影检查发现, 3例盆腔炎表现(下腹痛、腰骶痛、脓白带等)、2例阑尾炎表现(右下腹痛、局部压痛, 血常规白细胞增高等)及1例自觉体质量下降行气钡灌肠造影偶然发现.

1.2 方法 使用日本岛津公司生产的500 mA胃肠机; 术前常规准备, 清洁肠道, 选用青岛火圈牌X线双重造影硫酸钡(II型)干混悬剂, 配制浓度为60%-80%(W/V), 此浓度钡胶浆的流动性好, 黏着力强, 得到的气钡灌肠双重对比图像清晰. 经肛管插管, 并经导管先灌入钡剂500-800 mL, 然后再注入气体600-1000 mL, 然后, 不断转换体位以使钡剂、气体均匀充盈全部结肠, 形成气钡灌肠双重影像. 透视下实时点片.

2 结果

2.1 病灶部位 15例病变局限于升结肠(图1), 有7例侵及盲肠及升结肠(图2, 3), 有5例侵及盲肠、升结肠及横结肠(图4, 5), 4例侵及全结肠.

2.2 病变数目 最少的为3、4颗, 最多的近30颗.

2.3 病灶形态大小 均为大小不等针尖状、乳头状及囊袋状腔外突出, 最大直径为1.5 cm(图5).

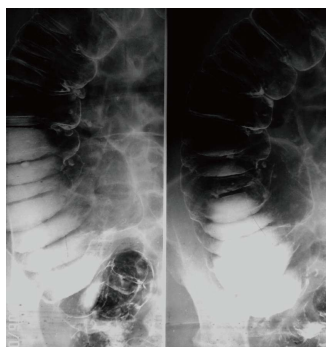


图1 女, 52岁, 下腹痛、腰骶痛、脓白带等2 wk, 无消化系统症状. 气钡灌肠造影: 升结肠见大小不等针尖状、乳头状及囊袋状腔外突出, 最大直径为0.5 cm.

2.4 合并憩室炎 共14例, 主要改变为乳头状、囊袋状的憩室呈不规则, 局部结肠袋消失, 肠管变形、狭窄, 有4例有结肠短缩改变(图4, 5).

3 讨论

3.1 发病率与发病因素 结肠憩室病多见于老年人, 40岁以下少见, 国外报道60-70岁者发病率为25%, 70岁以上为50%, 80岁以上为65%, 男:女之比4:1, 肥胖占1/3^[2,3]. 北京协和医院对该院60年来经尸检、结肠镜检以及病例资料搜寻所证实结肠憩室病的发现率为0.11%-1.3%, 随着我国老龄人口的增加及结肠镜检查的广泛普及, 年发病率呈明显上升趋势, 发病率随年龄增加而增高^[4]. 本组为男性高于女性, 男21女10, 年龄均在40岁以上, 与国内文献报道相同. 我国发病率较西方低, 有人认为与高纤维素饮食有关, 有人认为与种族遗传有关. 鉴于结肠憩室病多见于老年人, 认为老年退行病为发病的重要原因^[1].

3.2 病因病理 结肠憩室病病因及发病机制尚不完全清楚, 可能与下列因素有关: 肠壁本身发育缺陷, 如先天肠壁解剖层次薄弱、缺如或肥胖者肠壁脂肪浸润; 各种原因(如饮食结构改变, 长期低纤维饮食者, 肠道推进性运动缓慢, 粪便秘结等)引起肠内压力增高; 肠壁外牵拉作用, 黏连等^[5]. 结肠憩室病常见于肥胖、食精少渣、慢性便秘的老年人^[6]. 由于肥胖、便秘及肠管痉挛者使肠内压力增高而引起憩室, 一般为通过结肠薄弱肌层向外突出, 大多数为假性憩室, 少数为真性憩室. 有学者认为患者局部结肠肌层增厚, 肠内压力增高再加上食物、情绪、胆碱能药物因素作用, 在结肠壁局部薄弱处形成憩室^[7]. 由于某处肠壁结构薄弱或收缩力减弱, 引起粪物在该处淤积时间延长, 淤积并发酵, 细菌滋生, 毒素产生从而产生炎症^[8], 当憩室内粪便滞留引

■研发前沿

掌握气钡灌肠双重造影方法及认识结肠憩室病X线表现, 可以减少误诊与漏诊, 提高结肠憩室病检出率, 控制炎症发展, 减少憩室炎并发的出现.

■相关报道

2008年上海长海医院总结分析结肠憩室发生的部位右半结肠憩室占77%, 且多以单发为主, 左半结肠占13%, 其中多发憩室达62%. 贾林等认为结肠镜检和气钡灌肠是检查憩室最有效的方法.

■创新盘点

亚洲国家结肠憩室病好发于右半结肠,常为多发病灶,大多数结肠憩室为亚临床型,可终身无症状,一旦出现憩室炎、憩室穿孔等并发症对人的危害性较大,可危及生命。

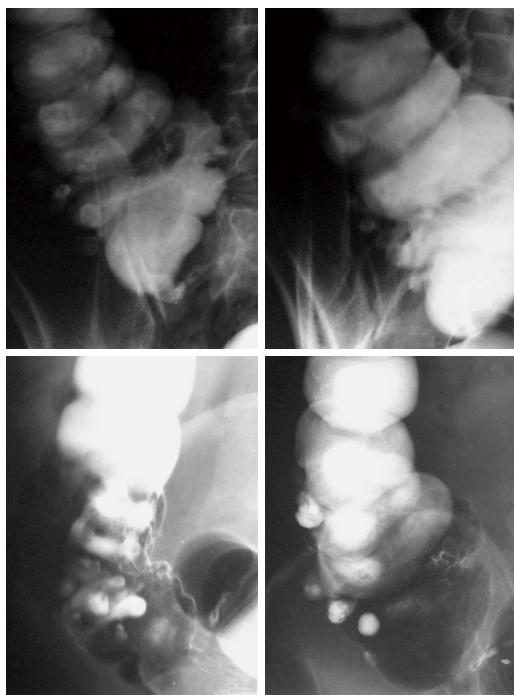


图 2 男, 64岁, 腹胀、腹痛、腹泻反复发作3年. 气钡灌肠造影: 盲肠、升结肠见大小不等乳头状及囊袋状腔外突出, 最大直径为1.0 cm, 部分呈不规则改变, 局部肠管变形, 结肠袋消失。

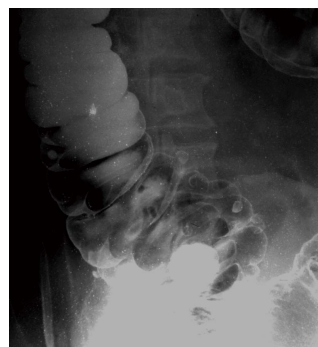


图 3 男, 65岁, 自觉体质量下降, 无消化系统症状. 气钡灌肠造影: 盲肠、升结肠见大小不等乳头状及囊袋状腔外突出, 最大直径为0.8 cm。



图 4 女, 56岁, 腹胀、腹痛, 伴腹泻、便秘反复发作8年. 气钡灌肠造影: 盲肠、升结肠及横结肠见大小不等乳头状、囊袋状腔外突出, 最大直径为1.5 cm, 部分呈不规则改变, 局部结肠袋消失, 肠管变形、狭窄, 回盲部结肠短缩改变。

起憩室颈部炎症、水肿、狭窄及阻塞,憩室内内容物不易排出,憩室内压增高,室壁变薄,使肠内细菌渗入肠壁发生憩室炎。本组合并憩室炎14例。炎症可自行消退,但也可反复发作形成慢性炎症,并可形成周围脓肿、穿孔、窦道、出血、肠梗阻等并发症^[9]。

3.3 临床症状 约80%-85%结肠憩室为亚临床型,可终身无症状,偶然钡灌肠、肠镜或尸检发现^[10]。单纯结肠憩室,一般没有临床症状,大多数都是偶然发现的。只有并发憩室炎后,才会出现腹痛、腹胀、便秘及腹泻等消化系统症状,或憩室炎并发症出现后,出现相应的症状继而进行钡灌肠或肠镜检查而发现。憩室的症状虽不严重,但其并发症可危及生命,如憩室炎、憩室穿孔、憩室出血。每年因并发症而死亡者1/10000^[11]。故对上述症状,尤其老年患者,应想到该病的可能,应尽早行气钡灌肠检查或结肠镜检。

3.4 气钡灌肠检查 结肠憩室常为多发,也可单发。结肠各段均可发生,Greenbaum^[2]认为,右半结肠憩室是由左半结肠憩室进展而来的,或是先天性的,后者则大多发生于青年人,以回盲瓣上方2-3 cm范围多见。西方国家乙状结肠憩室最常见,大约90%的患者累及乙状结肠和降结肠^[12],

而亚洲国家70%-90%发生于右半结肠,北京协和医院病例资料显示右半结肠憩室占68.3%,是左半结肠的5倍。2008年上海长海医院总结分析结肠憩室发生的部位右半结肠憩室占77%,且多以单发为主,左半结肠占13%,其中多发憩室达62%^[4]。本组31例,主要发生于右半结肠,4例侵及全结肠。且均为中老年人。本文认为结肠憩室病并非少见,即使出现时间较长,因没有发展为憩室炎或炎症轻微,往往没有症状或症状轻微不做检查而未被发现。如本组26例有结肠病变症状,其中有5例症状轻微,另有5例为其他病症状而进行钡灌肠检查偶然发现的。单纯憩室病的X线表现为:(1)圆球形或乳头状腔外突出影,为造影剂填充所致;(2)环形、水泡状或烧瓶状,为钡剂涂布在憩室内的粪块周围所致;(3)杯状或抱球状,为粪球堵于憩室底部,钡剂只充盈憩室颈部或近端所致。憩室大小不一,直径为数毫米至数厘米不等,大多数为0.5 cm左右。并发憩室炎的X线表现为:(1)憩室不显影,由于憩室颈部及病变肠段黏膜水肿引起颈部阻塞,钡剂不能进入憩室内,

■应用要点

检查应用X线双重造影硫酸钡(Ⅱ型)干混悬剂,配制浓度为60%-80%(W/V),此浓度钡胶浆的流动性好,黏着力强,得到的气钡灌肠双重对比图像清晰,更容易诊断结肠憩室病。

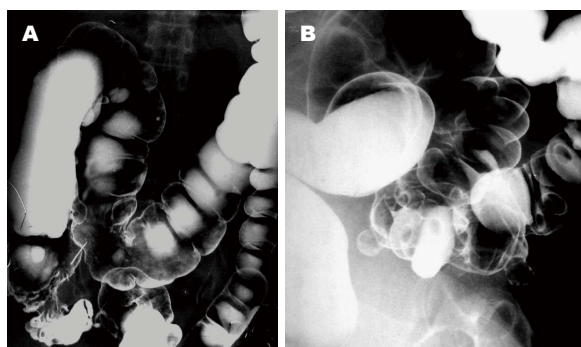


图 5 男, 68岁, 腹胀、腹痛, 伴腹泻、便秘反复发作3年。气钡灌肠造影: 盲肠、升结肠、横结肠(A)、降结肠及乙状结肠(B)见大小不等乳头状、囊袋状腔外突出, 最大直径为1.5 cm, 部分呈不规则改变, 局部结肠袋消失, 肠管变形、狭窄, 回盲部结肠短缩改变。

同行评价

我国逐步进入老年社会, 结肠憩室病发病率日益增高的时代, 本文有一定的参考价值。

炎症消退后又显示其特征^[13]; (2)憩室呈不规则状; (3)激惹痉挛僵硬改变, 炎症刺激引起激惹征象, 由于大量炎症细胞浸润及纤维组织增生肠壁增厚肠袋消失, 肠管变形、狭窄及短缩甚至呈蜡肠状。憩室炎并发症: (1)脓肿形成; (2)瘘道形成; (3)穿孔; (4)腹膜炎; (5)出血等。

总之, 结肠憩室病以中老年患者多见, 部分患者以非消化系统病就诊而误诊。随着我国人民生活水平的逐步提高、生活方式的转化, 以及膳食结构的改变, 结肠憩室发病率呈上升趋势, 且随着年龄的增长而增加, 由于结肠憩室病的发病率逐年增高, 而绝大多数结肠憩室患者无临床症状易被忽视, 一旦出现并发症如憩室炎、憩室出血、憩室穿孔等对人的危害性较大^[14], 可危及生命, 应引起注意, 对于中老年人如有腹胀、腹痛、大便异常或消化系出血、急腹症等, 应重点排除结肠憩室病变。结肠憩室病诊断不难, 结肠镜检和气钡灌肠为最有效的检查方法^[15]。我们对结肠憩室病应有更深入的认识, 要掌握气钡灌肠双重造影方法及认识结肠憩室病X线表现, 减少误诊与漏诊, 提高结肠憩室病检出率, 控制炎症发展, 减少憩室炎并发症的出现。

4 参考文献

1 魏秀芹. 136例结肠憩室病的内镜特点及临床分析. 胃

肠病学和肝病杂志 2011; 20: 825-826

2 Greenbaum EI. Radiographie Atlas of Colon Disease. Chicago: London, 1980: 113-152

3 吴惠生, 贾林, 李瑜元, 赵丽容, 聂玉强. 结肠憩室病18例临床分析. 临床消化病杂志 1997; 9: 80-82

4 Tan KK, Nallathamby V, Wong D, Sim R. Can super-selective embolization be definitive for colonic diverticular hemorrhage? An institution's experience over 9 years. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 112-118 [PMID: 19841988 DOI: 10.1007/s11605-009-1069-2]

5 Simpson J, Scholefield JH, Spiller RC. Pathogenesis of colonic diverticula. *Br J Surg* 2002; 89: 546-554 [PMID: 11972543 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2002.02076.x]

6 吴恩惠. 医学影像诊断学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 644-645

7 陈炽贤. 实用放射学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 500

8 苗苗, 周靖人, 荣阳. 结肠憩室炎的超声检查与应用价值. *中外医学研究* 2012; 10: 51-52

9 Comparato G, Pilotto A, Franzè A, Franceschi M, Di Mario F. Diverticular disease in the elderly. *Dig Dis* 2007; 25: 151-159 [PMID: 17468551 DOI: 10.1159/000099480]

10 潘国宗, 曹世植. 现代胃肠病学. 第1版. 北京: 科学出版社, 1994: 307-313

11 Filik L. Behçet's disease and colonic diverticula. *Dig Surg* 2009; 26: 506 [PMID: 20090340 DOI: 10.1159/000260415]

12 吴本严. 老年人结肠憩室病—关注以腹部包块为表现的憩室炎. *老年医学与保健* 2010; 16: 69-70

13 刘庚年, 谢庆霞. 消化系统影像诊断学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 90

14 姜洪华, 周福生, 黄春梅. 结肠憩室139例临床分析. *中国全科医生* 2007; 10: 1188-1189

15 贾林, 黄开红, 陶中原, 李瑜元. 老年结肠憩室患者的临床特点和并发症. *中华老年医学杂志* 2004; 19: 265-267

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



芍药安肠汤治疗活动期溃疡性结肠炎疗效及其对TNF- α 、IL-17及IL-21水平的影响

李晨, 范尧夫, 刘皓, 张前德

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性结肠炎症性疾病, 对于本病的病因及发病机制尚不十分明确, 但免疫因素的异常表现在UC的发病过程中占有重要的作用。目前现代医学对于本病的治疗主要采用水杨酸类、皮质类固醇类、免疫抑制剂等方法, 但是疗效并不满意, 且不良反应较大、复发率高。近年来中医药在干预活动期UC的临床症状方面取得了很大的进展。

李晨, 张前德, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210023

李晨, 南京中医药大学附属徐州市中医院 江苏省徐州市 221000

范尧夫, 刘皓, 南京医科大学 江苏省南京市 210029

李晨, 主治医师, 主要从事中西医结合消化病学研究。

高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No.

20093237110005

作者贡献分布: 此课题由李晨与张前德策划设计; 李晨与范尧夫负责资料收集、分析研究; 数据分析由范尧夫与刘皓完成; 本文写作由李晨完成。

通讯作者: 张前德, 教授, 博士生导师, 221000, 江苏省南京市汉中140号, 南京医科大学第一临床医学院。

zhangqiande@njmu.edu.cn

收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Therapeutic effect of Shaohuang Anchang decoction on active ulcerative colitis and serum levels of TNF- α , IL-17 and IL-21

Chen Li, Yao-Fu Fan, Hao Liu, Qian-De Zhang

Chen Li, Qian-De Zhang, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Chen Li, Xuzhou Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China

Yao-Fu Fan, Hao Liu, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20093237110005

Correspondence to: Qian-De Zhang, Professor, the First Clinical Medical College of Nanjing Medical University, 140 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. zhangqiande@njmu.edu.cn

Received: 2013-08-07 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To assess the therapeutic effect of Shaohuang Anchang decoction on active ulcerative colitis (UC) and on cytokines.

METHODS: Eighty patients with active UC were randomly divided into either a control group or a treatment group. The treatment group was given Shaohuang Anchang decoction twice daily, and

the control group was given mesalazine 4 times daily. The therapeutic course was 8 weeks in both groups. Symptom and endoscopic scores and clinical efficacy were compared between the two groups. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-17 (IL-17), and interleukin-21 (IL-21) were detected by ELISA.

RESULTS: The total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (90.0% vs 76.7%, $P < 0.05$). All indexes showed no significant differences before the treatment between the two groups (all $P > 0.05$). Symptom and endoscopic scores were significantly decreased after treatment (both $P < 0.05$). Serum levels of TNF- α , IL-17, IL-21 were significantly decreased after treatment (all $P < 0.05$). Only two patients of the control group had a moderate increase in AST during the treatment period.

CONCLUSION: Shaohuang Anchang decoction is effective and safe in treating active UC. Shaohuang Anchang decoction exerts a therapeutic effect against UC possibly by reducing serum levels of cytokines.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Shaohuang Anchang decoction; Ulcerative colitis; Tumor necrosis factor α ; Interleukin-17; Interleukin-21

Li C, Fan YF, Liu H, Zhang QD. Therapeutic effect of Shaohuang Anchang decoction on active ulcerative colitis and serum levels of TNF- α , IL-17 and IL-21. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3580-3584 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3580.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3580>

摘要

目的: 观察芍药安肠汤治疗活动期溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的疗效以及对活动期UC患者细胞因子的影响。

方法: 80例活动期UC患者采用中心随机系统

■同行评议者

王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

平均分为治疗组和对照组。治疗组给予芍黄安肠汤口服, 2次/d, 每次150 mL, 临证时根据病情的变化进行加减; 对照组给予美沙拉嗪缓释颗粒口服, 1 g/次, 4次/d, 疗程为8 wk。比较两组临床疗效及治疗前后两组患者的中医症状积分、肠镜下黏膜积分、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-17和IL-21的含量, 同时记录治疗过程中药物不良反应发生率。

结果: 治疗组总有效率为90.00%, 对照组总有效率为72.50%, 治疗组明显优于对照组($P<0.05$)。治疗前两组患者中医症状积分及肠镜下黏膜积分差异无统计学意义($P>0.05$); 疗程结束时治疗组的中医症状积分及肠镜下黏膜积分的改变优于对照组($P<0.05$), 治疗组可以更显著的降低患者TNF- α 、IL-17和IL-21的水平。疗程期间仅有对照组发生AST轻度升高2例。

结论: 芍黄安肠汤治疗活动期UC疗效显著, 其作用机制可能与调节机体内血清细胞因子表达有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 芍黄安肠汤; 溃疡性结肠炎; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-17; 白介素-21

核心提示: 本文利用芍黄安肠汤治疗活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 观察其疗效以及对活动期UC患者细胞因子的影响, 结果显示, 治疗组肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-17和IL-21浓度出现明显下降, 治疗前后有显著性差异, 提示芍黄安肠汤可能是通过调节UC患者的血清细胞因子, 减少细胞因子对淋巴细胞的活化, 有效抑制结肠损伤部位的炎症反应, 避免进一步的损伤, 从而达到治疗UC的目的。

李晨, 范尧夫, 刘皓, 张前德. 芍黄安肠汤治疗活动期溃疡性结肠炎疗效及其对TNF- α 、IL-17及IL-21水平的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3580-3584 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3580.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3580>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性结肠炎症性疾病^[1], 但对于本病的病因及发病机制尚不十分明确, 可能与免疫、遗传、环境等多种因素的相互作用有关^[2], 其

中免疫因素的异常表现在UC的发病过程中占有重要的作用。近年来研究证实, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、辅助性T细胞17及其分泌的细胞因子如白介素(interleukin, IL)-17、IL-21等细胞因子能够通过调节机体的免疫系统来诱导炎症反应的发生以及影响肠道黏膜的损伤愈合, 从而参与UC的发生发展, 这些细胞因子可以作为UC治疗效果及预后观察的重要指标^[3-5]。由于本病病程迁延, 反复难愈, 并有发生癌变的可能, 已被世界卫生组织列为现代难治性疾病之一^[6]。目前现代医学对于本病的治疗主要采用水杨酸类、皮质类固醇类、免疫抑制剂等方法, 但是疗效并不满意, 且不良反应较大、复发率高^[7]。近年来中医药在干预活动期UC的临床症状方面取得了很大的进展, 本研究采用芍黄安肠汤对活动期UC患者进行治疗, 观察其临床疗效, 并对患者的血清细胞因子进行监测, 探讨其作用机制, 为中医药治疗UC提供循证医学证据。

1 材料和方法

1.1 材料 所有患者均来自于南京中医药大学附属徐州市中医院门诊及住院患者。本次试验共入组患者80例, 采用计算机随机分组方法将患者分为治疗组和对照组。两组患者在年龄、性别、体质量、病程时间等经统计学检验(χ^2 检验或方差分析), 差异无统计学意义(均 $P>0.05$), 具有可比性(表1)。另选健康体检者无胃肠疾病者40例, 男25例, 女15例, 平均年龄42.6岁 \pm 7.3岁。诊断标准: UC西医诊断标准按2007年中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组之“中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见诊断标准”^[8]制定。中医辨证标准按《溃疡性结肠炎中西医结合诊治方案(草案)》^[9], 属湿热内蕴证。纳入标准: (1)所有纳入者必须符合UC西医诊断标准中轻、中度活动期患者; (2)患者年龄范围为18-65岁; (3)患者近3 mo未使用其他以治疗溃疡性结肠炎为目的的中西药物; (4)签署知情同意书。排除标准: (1)经检查证实为克罗恩病、急性感染性结肠炎、阿米巴肠炎、血吸虫病等其他疾病致黏液脓血便患者; (2)存在心血管、肝脏、血液、内分泌或其他全身系统性疾病, 难以完成临床试验方案; (3)妊娠期或哺乳期妇女; (4)不能耐受口服药物或有明显吸收障碍疾病病史; (5)合并有情绪障碍、认知障碍; (6)正在参加其他药物临床研究的患者。

■研究前沿

本研究采用芍黄安肠汤对活动期UC患者进行治疗, 观察中医症状积分、肠镜下黏膜积分, 评价其临床疗效, 并对患者的血清细胞因子进行监测的含量, 探讨其作用机制, 为中医药治疗UC提供循证医学证据。

■相关报道

Fujino等研究显示, IL-17⁺细胞主要分布于活动期UC患者肠黏膜组织中, 其数量显著多于缓解期UC患者。同时, 活动期UC患者血清白介素(interleukin, IL)-17水平明显高于健康对照组。GHILARDI等研究提示肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)可以加强T细胞、B细胞的增殖和分化, 促进中性粒细胞的聚集, 影响机体内部慢性炎症的发生, 其与UC肠黏膜损伤密切相关。

■创新亮点

芍黄安肠汤不仅可以调节机体的免疫功能,还可以改善肠道血液循环,加速肠道炎症吸收和溃疡面的修复。研究提示芍黄安肠汤可能是通过调节UC患者的血清细胞因子,减少细胞因子对淋巴细胞的活化,有效抑制结肠损伤部位的炎症反应,避免进一步的损伤,从而达到治疗UC的目的。

表 1 两组患者一般资料比较 ($n = 40$)

分组	年龄(岁)	男/女	BMI(kg/m ²)	病程时间(年)	肠镜黏膜下积分(分)
治疗组	44.3 ± 7.6	26/14	20.6 ± 1.3	3.1 ± 1.7	7.32 ± 2.41
对照组	43.9 ± 8.1	28/12	21.0 ± 1.1	3.4 ± 1.5	7.28 ± 2.57

表 2 两组临床疗效比较 ($n = 40, n(\%)$)

分组	完全缓解	有效	无效	总有效率(%)	χ^2 值
治疗组	14(35.00)	22(55.00)	4(10.00)	90.00 ^a	4.02
对照组	10(25.00)	19(47.50)	11(27.50)	72.50	

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

1.2 方法

1.2.1 治疗: (1)治疗组: 给予芍黄安肠汤(由黄连 6 g、炒白芍 20 g、黄芩 10 g、槟榔 10 g、厚朴 10 g、丹参 15 g、煨木香 10 g、赤石脂 15 g及生甘草 6 g组成)口服, 1剂/d, 煎取 300 mL, 分早晚 2 次服用。同时根据病情的变化进行随症加减: 腹痛较甚者, 加川楝子 10 g、延胡索 10 g; 便血明显者, 加茜草 20 g、血余炭 20 g; 腹泻加重者, 加石榴皮 15 g、防风 10 g; 腹冷痛者加炮姜 10 g、桂枝 6 g; 大便滑脱不禁者加肉豆蔻 10 g; 乏力、神疲者加黄芪 30 g、党参 30 g。 (2)对照组: 美沙拉嗪缓释颗粒(法国爱的发制药集团, 国药准字 H20040727), 1 g/次, 4次/d, 吞服勿咀嚼。两组疗程均为 8 wk, 治疗过程期间停用其他治疗相关药物或者影响药物疗效的药品。

1.2.2 观察指标: (1)中医症状积分: 按《中药新药临床研究指导原则》^[10]观察治疗前和治疗后患者腹泻、脓血便、腹痛、里急后重等临床症状, 按照标准来计分; 正常; 0分; 轻度; 1分; 中度; 2分; 重度; 3分; (2)肠镜检查黏膜积分: 治疗前和治疗后进行结肠镜检查, 按参考文献[11]进行评分; 正常黏膜; 0分; 轻度; 3分; 中度; 6分; 重度; 9分; (3)血清细胞因子检测: 所有患者清晨空腹时抽取上肢静脉血 5 mL, EDTA抗凝。采用 ELISA 双抗体夹心法测定血清中 TNF- α 、IL-17和 IL-21 的浓度, 所有操作严格按照试剂盒说明书进行检测。

统计学处理 数据均采用 SPSS 15.0 统计软件分析, 计量资料以 mean ± SD 表示, 治疗前后指标采用重复测量方差分析。组内比较采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 治疗组总有效率为 90.00%, 显效率为 35.00%; 对照组总有效率为 72.50%, 显效率为 25.00%。经 χ^2 检验, 两组总有效率方面有明显差异, 差异有统计学意义(表 2)。

2.2 两组患者治疗前后中医症状积分 两组患者治疗前各症状积分之间无明显差异($P > 0.05$); 治疗组患者各症状积分较治疗前均出现不同程度下降($P < 0.05$); 对照组患者的腹泻、脓血便积分较治疗前下降($P < 0.05$); 治疗组患者治疗后腹痛、脓血便、里急后重症状积分与对照组患者相比有不同差异($P < 0.05$), 在缓解腹泻方面两组治疗相比较无明显差异($P > 0.05$)(表 3)。

2.3 两组患者肠镜下黏膜积分比较 两组患者治疗前肠镜下黏膜积分之间无明显差异($P > 0.05$); 两组患者治疗后结肠黏膜充血、水肿、糜烂、溃疡四方面积分与治疗前相比, 均有明显降低($P < 0.05$); 两组患者假性息肉积分在治疗前后无明显差异($P > 0.05$); 治疗组患者在治疗后肠镜下黏膜各方面指征积分与对照组患者相比均有不同差异($P < 0.05$)(表 4)。

2.4 两组患者血清指标含量比较 治疗前, 两组患者血清 TNF- α 、IL-17 和 IL-21 的含量明显高于健康体检组($P < 0.05$), 但两组间差别无统计学意义($P > 0.05$); 疗程结束后, 两组患者的血清 TNF- α 、IL-17 和 IL-21 含量均出现不同程度的下降, 与治疗前相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 治疗后治疗组血清 TNF- α 、IL-17 和 IL-21 的含量下降较对照组相比, 具有显著性差异($P < 0.05$)(表 5)。

2.5 不良反应 本试验中试验组未出现明显不良反应, 对照组发生 AST 轻度升高 2 例, 给予保肝降酶药同时口服, 2 wk 后复查肝功能恢复正常。

表 3 两组患者治疗前后中医症状积分比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 分)

分组	腹痛	腹泻	脓血便	里急后重
治疗组				
治疗前	1.88 \pm 0.65	2.49 \pm 0.51	1.30 \pm 0.48	1.53 \pm 0.55
治疗后	1.07 \pm 0.34 ^{ac}	1.96 \pm 0.63 ^a	0.88 \pm 0.41 ^a	0.93 \pm 0.47 ^{ac}
对照组				
治疗前	1.91 \pm 0.58	2.48 \pm 0.46	1.35 \pm 0.52	1.49 \pm 0.61
治疗后	1.64 \pm 0.71	1.87 \pm 0.71 ^a	1.09 \pm 0.49 ^a	1.23 \pm 0.59

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组治疗后。表 4 两组患者治疗前后肠镜下黏膜积分比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 分)

分组	充血	水肿	糜烂	溃疡	假性息肉
治疗组					
治疗前	3.52 \pm 1.15	3.18 \pm 0.93	3.94 \pm 1.01	3.77 \pm 1.13	3.83 \pm 1.78
治疗后	1.64 \pm 0.47 ^{ac}	1.28 \pm 0.71 ^a	1.86 \pm 0.71 ^{ac}	1.94 \pm 0.87 ^{ac}	3.42 \pm 1.69
对照组					
治疗前	3.49 \pm 1.20	3.21 \pm 0.84	3.97 \pm 0.98	3.81 \pm 1.09	3.79 \pm 1.82
治疗后	2.55 \pm 0.53 ^a	2.63 \pm 0.82 ^a	2.84 \pm 0.68 ^a	3.05 \pm 0.99 ^a	3.46 \pm 1.65

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组治疗后。表 5 两组患者治疗前后肠镜下黏膜积分比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 分)

分组	TNF- α (ng/mL)	IL-17(pg/mL)	IL-21(pg/mL)
治疗组			
治疗前	62.47 \pm 9.26 ^a	398.43 \pm 23.28 ^a	462.26 \pm 23.35 ^a
治疗后	21.58 \pm 7.61 ^{ce}	213.28 \pm 18.55 ^{ce}	315.64 \pm 18.72 ^{ce}
对照组			
治疗前	60.55 \pm 10.08 ^a	387.52 \pm 25.46 ^a	463.80 \pm 20.49 ^a
治疗后	32.09 \pm 8.13 ^c	279.67 \pm 20.04 ^c	367.15 \pm 19.06 ^c
健康组	10.15 \pm 4.09	162.53 \pm 16.49	243.76 \pm 24.15

^a $P < 0.05$ vs 健康组; ^c $P < 0.05$ vs 治疗前; ^e $P < 0.05$ vs 对照组治疗后。TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL: 白介素。

3 讨论

研究发现, UC患者的血清细胞因子失衡是产生肠道非特异性炎症反应的核心环节, 在此过程中促炎因子的浓度会明显升高, 而抑炎因子分泌不足从而导致结肠黏膜的损伤^[12,13]。TNF- α 、IL-17和IL-21是UC炎症产生的有效介质, 在其发病过程中扮演者重要作用。IL-23可以促进Th17细胞的分泌, 并促使Th17分泌具有激活嗜中性粒细胞功能的IL-17, 在各种组织的炎症反应中发挥重要的调节作用^[14]。而TNF- α 可以加强T细胞、B细胞的增殖和分化, 促进中性粒细胞的聚集, 影响机体内部慢性炎症的发生, 其与UC肠黏

膜损伤密切相关^[15]。

UC临床表现主要是腹痛、腹泻、脓血便、里急后重等, 属于中医学“休息痢”、“泄泻”等范畴。活动期UC的主要病机是湿热侵及脾胃, 气血互结, 血败肉腐, 发为溃疡^[5]。针对活动期UC的治疗, 我们采用以清热化湿为主, 佐以理气、活血、收敛之法, 创制了芍黄安肠汤。方中黄芩、黄连清热燥湿、泻火解毒; 丹参、木香活血行气, 使补而不滞, 取其“行血则便脓自止、调气则后重自除”之意; 赤石脂涩肠止泻, 收湿生肌; 厚朴芳香化浊, 理气祛湿; 槟榔辛散湿邪, 下气通腑; 白芍、炙甘草柔肝缓急止痛。

■应用要点

芍黄安肠汤对UC患者的临床症状有很好的改善作用, 发现UC患者血清细胞因子的浓度均高于健康人群, 表明TNF- α 、IL-17和IL-21水平的异常升高可以作为UC活动度检测的指标。但是本方对UC的具体调节信号通路尚需要进一步的研究。

■同行评价

本文有一定的先进性和科学性。

诸药合用,走而不守,祛邪而不伤正,共奏清热解毒化湿、化瘀护膜生肌之功。根据现代药理学研究本方不仅可以调节机体的免疫功能,还可以改善肠道血液循环,加速肠道炎症吸收和溃疡面的修复。

本研究结果显示,芍黄安肠汤对UC患者的临床症状有很好的改善作用,中医证候积分、肠镜下黏膜积分与治疗前相比均有显著性差异($P<0.05$);与对照组相比改善程度方面的差异有统计学意义($P<0.05$)。我们以40例健康体检者作为对照,检测纳入UC患者的血清细胞因子TNF- α 、IL-17和IL-21,结果发现UC患者血清细胞因子的浓度均高于健康人群,表明TNF- α 、IL-17和IL-21水平的异常升高可以作为UC活动度检测的指标。当患者在疗程结束后,研究发现治疗组TNF- α 、IL-17和IL-21浓度出现明显下降,治疗前后有显著性差异($P<0.05$),提示芍黄安肠汤可能是通过调节UC患者的血清细胞因子,减少细胞因子对淋巴细胞的活化,有效抑制结肠损伤部位的炎症反应,避免进一步的损伤,从而达到治疗UC的目的,但是本方对UC的具体调节信号通路尚需要进一步的研究。

4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMr1102942]
- 2 Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621 [PMID: 20192811 DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225]
- 3 Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756-1767 [PMID: 21530742 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.016]
- 4 张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰. Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 19-26
- 5 王雁梅, 康美清, 崔燕兵, 邢志霞, 王瑞芳. 葛根芩连五炭汤内外合治活动期溃疡性结肠炎. *中国实验方剂学杂志* 2012; 18: 267-270
- 6 萧树东. 消化系统疾病基础与临床进展. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2005: 235
- 7 张文新, 谭晓梅, 胡元利, 王新雨. 香连丸有效部位对小鼠急性溃疡性结肠炎的治疗作用. *中国实验方剂学杂志* 2011; 7: 170
- 8 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 9 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊治方案(草案). *中国中西医结合杂志* 2004; 24: 1052-1055
- 10 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 129-134
- 11 Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE. Variation Between Observers in Describing Mucosal Appearances In Proctocolitis. *Br Med J* 1964; 1: 89-92 [PMID: 14075156]
- 12 Sventoraityte J, Zvirbliene A, Kiudelis G, Zalinkevicius R, Zvirbliene A, Praskevicius A, Kupcinskis L, Tamosiunas V. Immune system alterations in patients with inflammatory bowel disease during remission. *Medicina (Kaunas)* 2008; 44: 27-33 [PMID: 18277086]
- 13 万国仕, 赵振中, 钱一龙, 谢中华, 王珠美, 朱建俊. 血清SOCS-3、IL-6在溃疡性结肠炎患者中的变化及其相互关系. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3370-3373
- 14 Bamias G, Cominelli F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 365-369 [PMID: 17545770]
- 15 Ghilardi N, Ouyang W. Targeting the development and effector functions of TH17 cells. *Semin Immunol* 2007; 19: 383-393 [PMID: 18083530]

编辑 田滢 电编 闫晋利



粪便中基因甲基化检测筛查结直肠肿瘤的荟萃分析

陆宏娜, 张 谢, 王丹萍, 董显文, 黄志刚

陆宏娜, 张谢, 王丹萍, 董显文, 黄志刚, 浙江省宁波市医疗中心李惠利医院 浙江省宁波市 315211

陆宏娜, 王丹萍, 宁波大学医学院 浙江省宁波市 315040

陆宏娜, 硕士生, 主要从事胃肠系肿瘤的研究.

宁波市社会发展基金资助项目, No. 2011C50022

作者贡献分布: 此课题由黄志刚设计; 研究过程由陆宏娜、张谢及王丹萍操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由黄志刚提供; 数据分析由陆宏娜与张谢完成; 本论文写作由陆宏娜、黄志刚及董显文完成.

通讯作者: 黄志刚, 副主任医师, 315040, 浙江省宁波市兴宁路57号, 浙江省宁波市医疗中心李惠利医院消化内科.

luhongna1218@126.com

电话: 0574-87018768

收稿日期: 2013-08-09 修回日期: 2013-10-15

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2013-11-18

Detection of fecal DNA methylation for colorectal neoplasia screening: A meta-analysis

Hong-Na Lu, Xie Zhang, Dan-Ping Wang,
Xian-Wen Dong, Zhi-Gang Huang

Hong-Na Lu, Xie Zhang, Dan-Ping Wang, Xian-Wen Dong, Zhi-Gang Huang, Ningbo Medical Center, Lihuili Hospital, Ningbo 315041, Zhejiang Province, China

Hong-Na Lu, Dan-Ping Wang, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang Province, China
Supported by: the Ningbo Social Development Project, No. 2011C50022

Correspondence to: Zhi-Gang Huang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Ningbo Medical Center, Lihuili Hospital, 57 Xingning Road, Ningbo 315041, Zhejiang Province, China. luhongna1218@126.com

Received: 2013-08-09 Revised: 2013-10-15

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To systemically evaluate the feasibility of using methylated genes as biomarkers for the detection of colorectal neoplasia.

METHODS: We searched PubMed, the Web of Science and On-line Visual Display Unit Interrogation of Data Bases (OVID) with the key words "colorectal cancer/colorectal adenoma/colorectal polyps", "methylation", "stool/fecal DNA" for studies that used hypermethylated genes as biomarkers for the detection of colorectal cancer (CRC) or adenomas. This meta-analysis used the sensitivity, specificity and 95% confidence in-

tervals (95%CI) as effect measurements, and the Stata statistical software (version 11.0) was used to perform statistical analyses.

RESULTS: A total of 24 studies including 3555 patients were selected into the final analysis. The sensitivity and specificity of detecting single methylated gene in fecal DNA for the detection of colorectal neoplasia (CRC and adenomas) were 0.58 (95%CI: 0.51-0.66) and 0.93 (95%CI: 0.89-0.96), respectively. The sensitivity and specificity of detecting multiple methylated genes in fecal DNA for the detection of colorectal neoplasia were 0.79 (95%CI: 0.67-0.81) and 0.88 (95%CI: 0.86-0.91), respectively.

CONCLUSION: Analysis of stool DNA methylation has a reasonable sensitivity and specificity for the detection of CRC, and may provide a promising and noninvasive screening method for colorectal cancer. Combined detection of multiple methylated genes in fecal DNA is superior to the single gene detection method for colorectal neoplasia screening.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Adenoma; DNA methylation; Stool; Meta-analysis

Lu HN, Zhang X, Wang DP, Dong XW, Huang ZG. Detection of fecal DNA methylation for colorectal neoplasia screening: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3585-3591 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3585>

摘要

目的: 越来越多的研究发现粪便中基因异常甲基化可作为生物标志来检测结直肠肿瘤. 为了系统评价粪便甲基化基因作为生物标志物来检测结直肠肿瘤的可行性.

方法: 以 "colorectal cancer/colorectal adenoma/colorectal polyps"、"methylation"、"stool/fecal DNA" 作为关键词, 检索PubMed、Web

■背景资料

结直肠癌是目前发病率和死亡率都排名第3的恶性肿瘤, 绝大部分来自于癌前疾病-结肠腺瘤, 结肠腺瘤到癌变过程大约需5-15年, 因此, 针对普通人群的结直肠癌筛查可显著降低结直肠癌死亡率.

■同行评议者

吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

■研究前沿

通过本次荟萃分析,我们可以发现粪便基因甲基化检测筛查CRC具有较高的敏感性和特异性,具有作为无创性CRC筛查方法的前景,而且,联合检测多基因甲基化方法筛查结肠肿瘤优于单基因检测方法。

of Knowledge和OVID(On-line Visual Display Unit Interrogation of Databases)数据库纳入研究甲基化基因作为生物标志物来检测结肠直肠癌(colorectal cancer, CRC)或腺瘤的相关文献。该荟萃分析是使用了敏感性、特异性和95%CI作为影响测量结果,采用Stata11.0软件进行统计学分析。

结果:一共有24个研究,3555例患者被纳入。统计结果显示粪便DNA中检测单基因甲基化筛查结肠直肠癌(CRC和腺瘤)的敏感性和特异性分别为0.58(95%CI: 0.51-0.66)和0.93(95%CI: 0.89-0.96),联合检测多基因甲基化筛查结肠直肠癌的敏感性和特异性分别为0.79(95%CI: 0.67-0.81)和0.88(95%CI: 0.86-0.91)。

结论:通过本次荟萃分析,我们可以发现粪便基因甲基化检测筛查CRC具有较高的敏感性和特异性,具有作为无创性CRC筛查方法的前景,而且联合检测多基因甲基化方法筛查结肠肿瘤优于单基因检测方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠直肠癌; 腺瘤; 基因甲基化; 粪便; 荟萃分析

核心提示: 本次荟萃分析发现粪便基因甲基化检测筛查结肠直肠癌(colorectal cancer, CRC)具有较高的敏感性和特异性,具有作为无创性CRC筛查方法的前景,而且,联合检测多基因甲基化方法筛查结肠肿瘤优于单基因检测方法。

陆宏娜, 张谢, 王丹萍, 董显文, 黄志刚. 粪便中基因甲基化检测筛查结肠直肠癌的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3585-3591 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3585>

0 引言

结肠直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球发病率和死亡率都排名第3的恶性肿瘤^[1]。在过去的二十年中,我国的CRC的发病率和死亡率迅速增加,成为癌症死亡的第5大原因^[2]。由于CRC早期临床表现不典型,因此对CRC的早期筛查有助于降低CRC的发病率及死亡率。目前已有许多筛查CRC的方法,包括粪便潜血试验(fecal occult-blood test, FOBT)、软式乙状结肠镜、钡剂灌肠和结肠镜检查。其中,结肠镜检查及粪便潜血试验是使用最频繁的,前者是敏感度高,但存在需清洁灌肠、痛苦、检查时间较长、有一

定并发症等缺点,而后者虽然相对简单易用,但敏感性和特异性不高^[3]。粪便DNA检测相对于这些筛选方式的优势在于他是非侵入性的,肿瘤细胞不断脱落进入肠腔,并与粪便混合,我们可以从粪便标本中分离出人类的DNA,并进行生物标志物分析,在理论上,可用于CRC或腺瘤的早期检测。

在过去的几年中,越来越多的研究发现粪便标本中异常甲基化的基因可以作为诊断标志物来检测CRC或腺瘤。但由于各个研究所选择的基因类型及基因甲基化检测方法不同,无法评估粪便DNA基因甲基化检测筛查CRC的精确性,因此,对之前研究检测粪便DNA生物标志物的敏感性和特异性进行荟萃分析可为这些测试的诊断价值提供更精确的估计。此次研究的目的是利用荟萃分析,以明确检测粪便DNA甲基化诊断CRC或腺瘤的准确性。

1 材料和方法

1.1 材料 以“colorectal cancer/colorectal adenoma/colorectal polyps”、“methylation”、“stool/fecal DNA”作为检索词,检索PubMed、Web of Science和OVID(On-line Visual Display Unit Interrogation of Databases)数据库,检索从建库至2012-12为止的英文文献,纳入使用粪便标本中一个或多个甲基化基因作为生物标志物来检测CRC或腺瘤的相关文献。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)各研究假设和研究方法相似,文献提供病例入选标准,有严格的对照组; (2)原始研究的病例组是组织病理检测确诊的结肠直肠癌或腺瘤患者,且病例组样本为CRC或腺瘤患者粪便; (3)文献中至少有一个或多个基因甲基化研究,并提供敏感性及特异性。

1.2.2 排除标准: (1)重复报告,存在研究设计缺陷,质量差; (2)原始资料数据不完整,不提供或无法计算敏感性及特异性的文献; (3)非病例对照研究,文献综述等。

统计学处理 (1)数据收集: 收集各个研究中检测的敏感性,特异性,95%CI; (2)异质性检验: 用 χ^2 评估是否存在统计学异质性, I^2 检验评估异质性大小,若 $P>0.05$, $I^2<50\%$ 为异质性不显著, $P<0.05$, $I^2>50\%$ 为异质性显著; (3)荟萃分析: 若数据间异质性不显著,则采用固定效应模型,否则采用随机效应模型; (4)敏感性分析: 应用固定效应模型和随机效应模型分别进行荟萃分析,

表 1 入选文献的相关资料

编号	入选研究	国家	结直肠癌		腺瘤		正常		方法	基因
			阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性		
1	Chen等 ^[6] 2005	USA	43	51			20	178	MSP	<i>vimentin</i>
2	Itzkowitz等 ^[6] 2008	USA	63	19			62	301	MSP	<i>vimentin</i>
3	Itzkowitz等 ^[7] 2007	USA	9	31			19	103	MSP	<i>vimentin</i> , <i>HLTF</i>
4	Li等 ^[15] 2009	USA	9	13	9	11	2	36	Methyl- BEAMing	<i>vimentin</i>
5	Huang等 ^[26] 2007	China	49	3	11	10	1	23	MSP	<i>SFRP2</i>
6	Wang ^[17] 2008	China	60	9	21	13	2	28	MethylLight	<i>SFRP2</i>
7	Oberwalder等 ^[12] 2007	Austria			6	7	0	6	MethylLight	<i>SFRP2</i>
8	Zhang等 ^[18] 2007	Germany	16	3	7	0	2	12	MSP	<i>SFRP1</i>
9	Lenhard等 ^[19] 2005	Germany	11	15	4	9	0	32	MSP	<i>HIC1</i>
10	Petko等 ^[13] 2005	USA			16	13	7	12	MSP	<i>CDKN2</i> , <i>MGMT</i> , <i>MLH1</i>
11	Leung等 ^[20] 2007	Hongkong	15	5	17	8	3	27	MSP	<i>APC</i> , <i>ATM</i> , <i>hMLH1</i> , <i>SFRP2</i> , <i>HLTF</i> , <i>MGMT</i>
12	Melotte等2009 ^[8]	Netherlands	42	33			3	72	qMSP	<i>NDRG4</i>
13	Hellebrekers等2009 ^[9]	Netherlands	44	31			9	66	qMSP	<i>GATA4</i>
14	Glöckner等2009 ^[21]	USA	59	14	4	15	11	64	qMSP	<i>TFPI2</i>
15	Kim等 ^[22] 2009	USA	26	43	2	14	4	77	qMSP	<i>OSMR</i>
16	Bosch等 ^[23] 2011	Netherlands	29	15	6	13	0	30	qMSP	<i>PHACTR3</i>
17	Ahlquist等 ^[24] 2011	Canada	214	38	51	43	32	261	QuARTS	<i>BMP3</i> , <i>NDRG4</i> , <i>VIMETIN</i> , <i>TFPI2</i>
18	Muller等 ^[4] 2004	Austria	19	4			6	20	MethylLight	<i>SFRP2</i>
19	Nagasaka等 ^[25] 2009	Japan	63	21	12	15	12	101	COBRA	<i>RASSF2</i> , <i>SFRP2</i>
20	Huang等 ^[16] 2007	China	50	2	15	6	1	23	MSP	<i>SFRP2</i> , <i>HPP1</i> , <i>MGMT</i>
21	Baek等 ^[27] 2009	South Korea	45	15	31	21	5	32	MSP	<i>MGMT</i> , <i>hMLH1</i> , <i>Vimentin</i>
22	Mayor等 ^[10] 2009	Spain	8	22			1	29	Melting Curve Analysis(MC)	<i>EN1</i>
23	Abbaszadegan等 ^[11] 2007	Iran	5	20			0	20	MSP	<i>p16</i>
24	Ausch等 ^[14] 2009	USA			9	4	6	22	qMSP	<i>IGTA4</i>

■相关报道

Muller等检测结肠癌患者粪便中*SFRP2*基因甲基化情况,发现与对照组相比灵敏性为90%,特异性77%。Lenhard等报道在结肠癌及大肠腺瘤患者中高甲基化*HIC1*率分别为42%和31%。对于联合检测多个基因甲基化研究,Beak等联合检测*MGMT*、*hMLH1*、*vimentin*基因甲基化,发现对结肠癌检测阳性率可达75%,结直肠腺瘤检测率为59.6%。

两种模型结果的一致程度可在一定程度上反映合并结果的可靠性; (5)评估潜在偏倚: 采用漏斗图分析法, Begg的秩相关检验法, 如果 $Z > 1.98$, $P < 0.05$, 提示可能存在发表偏倚; 如果 $Z < 1.98$, $P > 0.05$, 则认为没有发表偏倚; (6)所有数据的统计分析使用STATA11.0软件完成。

2 结果

2.1 文献检索结果 共检索到215篇相关文献, 其中有189篇文献不符合上述的纳入标准, 一篇数据重复, 另一篇的原始资料数据不完整, 无法计算敏感性及特异性。经过筛选, 共有24篇文献, 3555例患者被纳入。研究源于11个国家或地区(包括美国、中国、德国、荷兰、西班牙、日本、加拿大、伊朗、香港、奥地利和韩国), 发表在2004-2011年间。研究的样本量范围为41-639例。其中8项仅研究CRC患者粪便的基因甲基化状态^[4-11], 3项仅研究腺瘤^[12-14], 13项研

究了CRC和腺瘤患者^[15-27]。24篇文献中有17项研究仅用单个甲基化基因作为诊断标志物进行研究^[4-6,8-12,14-19,21-23], 另外7项研究使用多基因甲基化进行研究^[7,13,20,24-27]。研究的基因甲基化检测方法也有所不同, 11项研究使用甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)^[5-7,11,13,16,18-20,26,27], 6项使用定量甲基化特异性PCR(quantitative methylation specific PCR, qMSP)^[8,9,14,21-23], 3项使用甲基化荧光定量PCR(MethylLight)^[4,12,17], 1项使用结合重亚硫酸盐的限制性内切酶法(combined bisulfite restriction analysis, COBRA)^[25], 1项使用溶解曲线分析法(melting curve analysis, MC)^[10], 1项使用数字PCR-流式技术(methyl-BEAMing)^[5], 1项研究中使用QuARTS技术(quantitative allele-specific real-time target and signal amplification)^[24]。研究对象的基本情况如表1。

2.2 异质性检验结果 荟萃分析显示, 粪便DNA中检测单基因甲基化筛查CRC、腺瘤、结直肠

■ 创新盘点

本文综合分析了近十年国内外关于粪便中基因甲基化检测筛查结直肠癌的研究,并比较单基因检测及多基因检测筛查结直肠癌的敏感性和特异性,我们可以发现粪便基因甲基化检测筛查CRC具有较高的敏感性和特异性,具有作为无创性CRC筛查方法的前景。

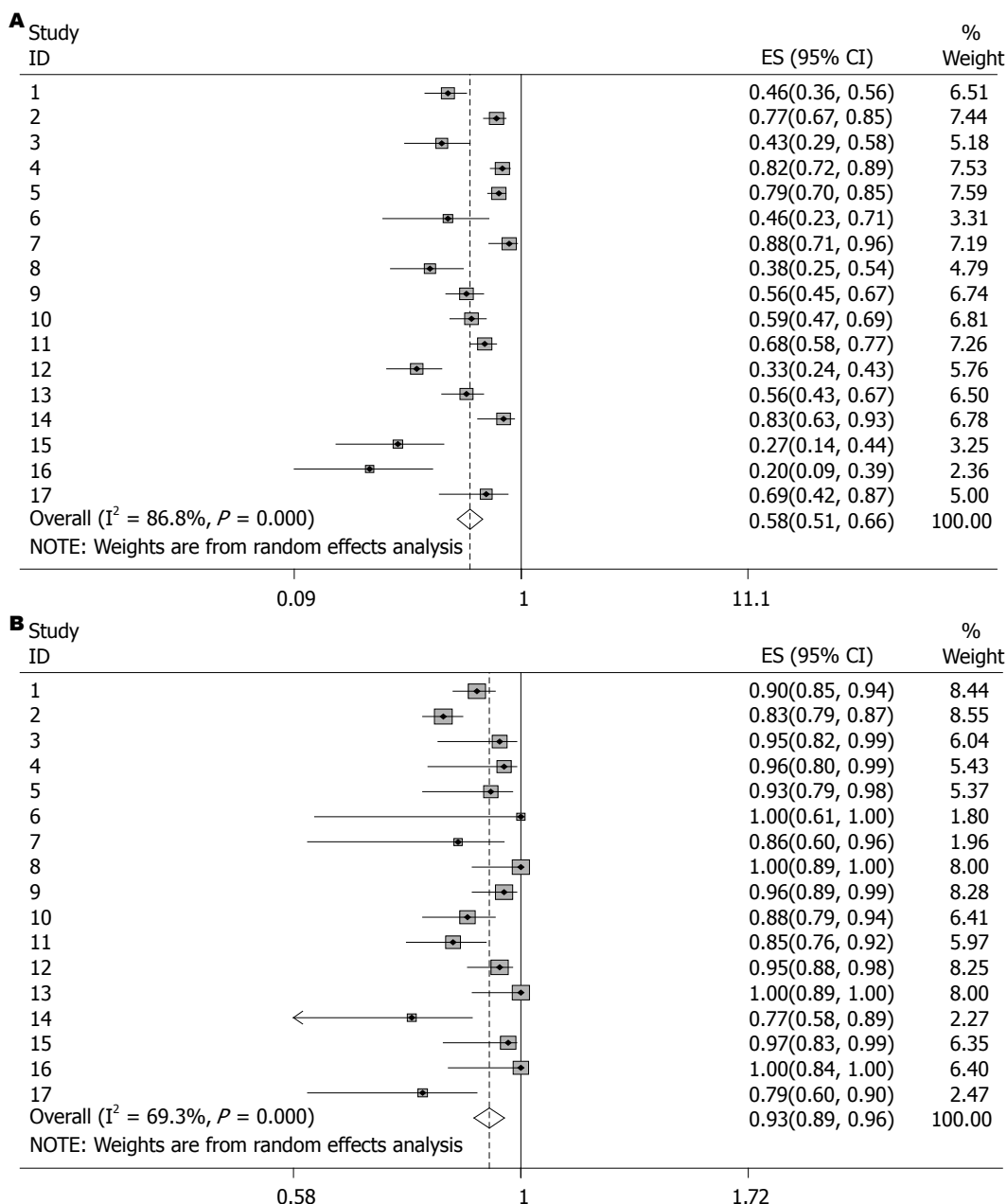


图1 粪便中单基因甲基化检测筛查大肠肿瘤的敏感性和特异性。A: 敏感性. 异质性检验: $\chi^2 = 121.38$ (df = 16), $I^2 = 86.8\%$, $P < 0.001$, 合并效应量检验: $Z = 7.93$, $P < 0.001$. B: 特异性. 异质性检验: $\chi^2 = 52.11$ (df=16), $I^2 = 69.3\%$, $P < 0.001$, 合并效应量检验: $Z = 4.07$, $P < 0.001$.

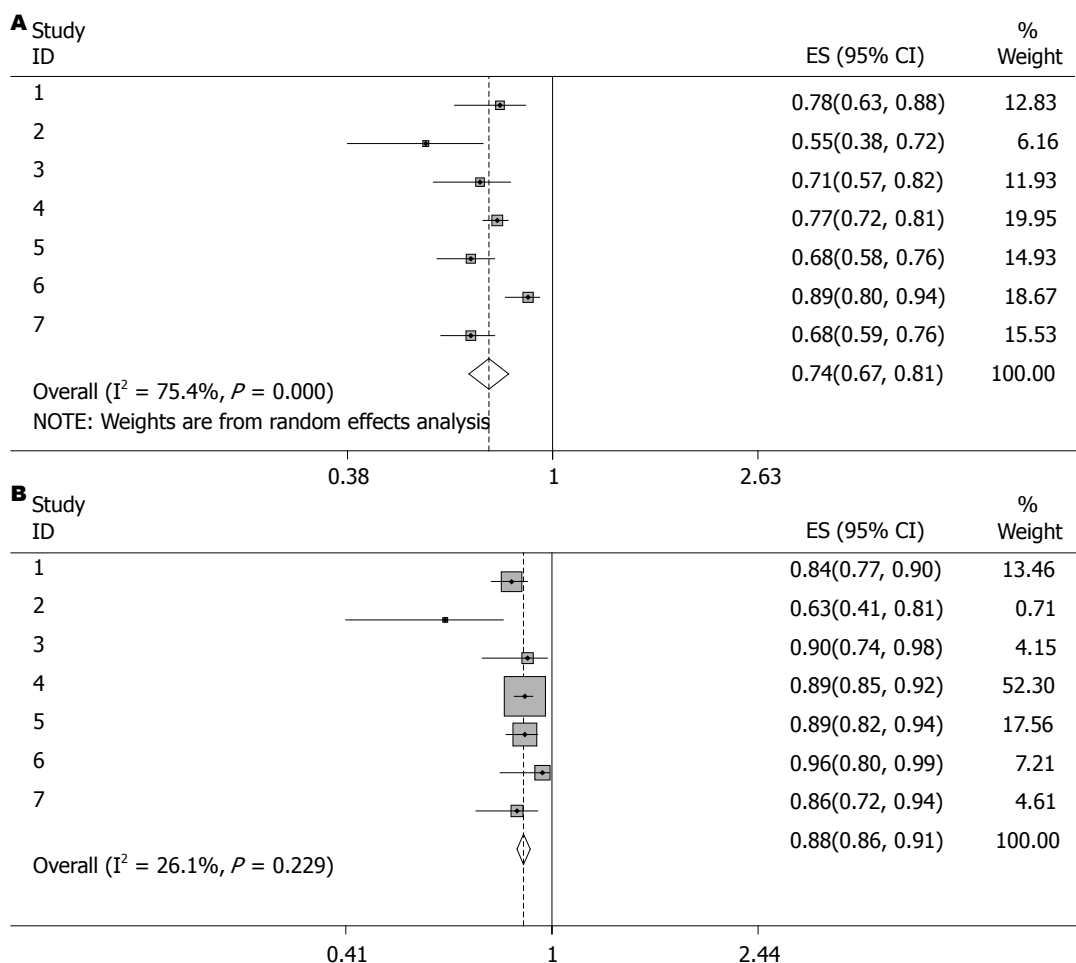
肿瘤的敏感性和筛查CRC, 结直肠肿瘤的特异性以及联合检测多基因筛查CRC, 结直肠肿瘤敏感性的异质性检验结果为 $P < 0.05$, $I^2 > 50\%$, 提示研究间异质性显著, 采用随机效应模型进行Meta分析, 其余数据分析结果为 $P > 0.05$, $I^2 < 50\%$, 提示研究间异质性不显著, 采用固定效应模型。

2.3 单基因甲基化检测结果 统计结果显示粪便DNA中检测单基因甲基化筛查CRC、腺瘤、结直肠肿瘤(CRC和腺瘤)的总敏感性分别为0.62(95%CI: 0.53-0.71)、0.48(95%CI: 0.35-0.65)、0.58(95%CI: 0.51-0.66); 特异性

分别0.93(95%CI: 0.90-0.96)、0.96(95%CI: 0.93-0.98)、0.93(95%CI: 0.89-0.96)(图1)。

2.4 多基因甲基化检测结果 联合检测多基因甲基化筛查CRC、腺瘤、结直肠肿瘤的总敏感性分别为0.82(95%CI: 0.75-0.90)、0.58(95%CI: 0.52-0.64)、0.79(95%CI: 0.67-0.81); 特异性分别为0.89(95%CI: 0.86-0.91)、0.89(95%CI: 0.86-0.92)、0.88(95%CI: 0.86-0.91)(图2)。

2.5 偏倚评估结果 我们还对结直肠肿瘤患者粪便样本中单基因及多基因甲基化检测的敏感性和特异性进行了偏倚评估。单基因甲基化



■应用要点

通过本次荟萃分析, 我们可以发现粪便基因甲基化检测筛查CRC具有较高的敏感性和特异性, 具有作为无创性CRC筛查方法的前景。其次, 甲基化检测的方法学及灵敏度需要进一步改进和标准化, 将有助于粪便甲基化检测能够尽早应用于临床。

图2 粪便中多基因甲基化检测筛查大肠肿瘤的敏感性和特异性。A: 敏感性. 异质性检验: $\chi^2 = 24.36$ (df = 6), $I^2 = 75.4\%$, $P < 0.001$, 合并效应量检验: $Z = 6.29$, $P < 0.001$; B: 特异性. 异质性检验: $\chi^2 = 8.12$ (df = 6), $I^2 = 26.1\%$, $P = 0.229$, 合并效应量检验: $Z = 8.38$, $P < 0.001$.

检测敏感性的Begg的秩相关检验法显示 $Z = 3.01 > 1.98$, $P < 0.05$ 提示可能存在发表偏倚, 特异性的Begg的秩相关检验法显示 $Z = 0.91 < 1.98$, $P > 0.05$, 认为没有发表偏倚; 多基因甲基化检测敏感性的Begg的秩相关检验法显示 $Z = 0.90 > 1.98$, $P > 0.05$ 提示没有发表偏倚, 特异性的Begg的秩相关检验法显示 $Z = 0.90 < 1.98$, $P > 0.05$, 认为没有发表偏倚。

3 讨论

尽管对50岁以上的人进行CRC的筛查, 可以降低CRC的发病率^[1], 但只有少数人能够接受以结肠镜检查为基础的筛查。FOBT是目前使用最广泛的非侵入性的大肠癌筛查方法, 然而, 研究表明FOBT的灵敏度大概只有14%, 部分是因为无出血的肿瘤未能被发现^[28]。因此, 我们需要寻找一种非侵入性的高敏感性和特异性的方法来筛查结直肠肿瘤。

从癌症的病因学角度分析, 良性肿瘤如息

肉发展到恶性肿瘤是遗传学和表遗传学改变积累的过程。表观遗传学变异是在细胞分裂过程中可遗传的不涉及DNA序列改变的基因组修饰作用^[29]。其中基因启动子上的甲基化可以导致基因失活, 且往往发生在肿瘤早期, 其检测有助于肿瘤的早期诊断及评价肿瘤的发展、转移及预后, 对指导临床工作有重要意义。由于肿瘤细胞不断脱落进入肛肠并与粪便混合, 因此在粪便DNA中检测基因遗传学或表观遗传学改变可以作为筛查方法来早期发现结直肠肿瘤^[30]。

在过去的研究中, 很多高甲基化基因已经被用作生物标志物来检测CRC或腺瘤, 包括P16、MutL同源蛋白1(MutL homolog 1, MLH1)、O型6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O-6-methyl-guanine-DNA methyltransferase, MGMT)、分泌型卷曲相关蛋白2(secreted frizzled-related protein 2, SFRP2)、N-Myc下游调节基因4(N-myc downstream-regulated gene 4, NDRG4)和波形蛋白(vimentin)等^[6,8,11,20,26], 但这些研究的甲基化检

■名词解释

DNA甲基化:是指生物体在DNA甲基转移酶(DMT)的催化下,以S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体,将甲基转移到CpG胞嘧啶的5'碳原子,形成5-甲基胞嘧啶的过程;甲基化特异性PCR:是一种特异位点甲基化检测技术,其基本原理是用亚硫酸氢钠处理基因组DNA,未甲基化的胞嘧啶变成尿嘧啶,而甲基化的胞嘧啶不变。因此从理论上讲,用不同的引物做PCR,即可检测出这种差异,从而确定基因有无CpG岛甲基化。

测的敏感性和特异性差异很大,例如联合检测*SFRP2*、*HPPI*、*MGMT*基因甲基化的敏感性高达96%^[26],而检测P16的敏感性却只有20%^[11]。单基因甲基化检测筛查CRC和腺瘤的敏感性分别为20%-94%和13%-100%,特异性为77%-100%^[4-6,8-12,14-19,21-23];联合检测多基因甲基化筛查CRC和腺瘤的敏感性分别为75%-96%和44%-71%,特异性为63%-96%^[7,13,20,24-27],Ahlquist等^[24]在研究粪便DNA的骨形态发生蛋白3(bone morphogenetic protein 3, *BMP3*)、*NDRG4*、*vimentin*、组织因子途径抑制因子2(tissue factor pathway inhibitor 2, *TFPI2*)4个基因的甲基化状态中发现,联合检测这4个基因的敏感性比单独各项检测指标高。

本荟萃分析显示,粪便单基因及多基因甲基化检测筛查CRC的敏感性分别为62%和82%,特异性分别为93%和89%,这些结果表明,检测粪便基因甲基化发现CRC具有很高的精确度,检测腺瘤的敏感性分别为48%和58%,特异性分别为96%和89%,粪便基因甲基化检测方法对大肠癌的敏感性大于腺瘤。粪便DNA中联合检测多基因甲基化筛查结直肠肿瘤的总敏感性(79%)明显高于单基因甲基化检测的敏感性(58%),联合检测多基因甲基化方法筛查结直肠肿瘤优于单基因检测方法。此研究表明,与传统的FOBT相比,粪便基因甲基化检测能够更加精确诊断CRC及腺瘤,虽然此方法的敏感性不如诊断CRC的“金标准”-结肠镜,但是,粪便基因甲基化检测方法易于取样,无需肠道准备且无痛苦,更容易让患者接受。

统计学分析结果显示,结直肠肿瘤患者粪便样本中单基因甲基化检测的敏感性存在发表偏倚,这可能与纳入文献所研究的患者的种族、性别、样品例数,研究人员技术差异,所研究的基因以及检测基因甲基化的方法不同有关。通过本次荟萃分析,我们可以发现粪便基因甲基化检测筛查CRC具有较高的敏感性和特异性,具有作为无创性CRC筛查方法的前景。但目前,尚缺乏理想的粪便甲基化基因标志物,能够单独用于结直肠肿瘤的筛查中。其次,甲基化检测的方法学及灵敏度需要进一步改进和标准化,将有助于粪便甲基化检测能够尽早应用于临床。

4 参考文献

- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684 DOI: 10.3322/canjclin.55.1.10]

- Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795 DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70422-8]
- Jenkinson F, Steele RJ. Colorectal cancer screening - methodology. *Surgeon* 2010; 8: 164-171 [PMID: 20400027 DOI: 10.1016/j.surge.2009.10.015]
- Müller HM, Oberwalder M, Fiegl H, Morandell M, Goebel G, Zitt M, Mühlthaler M, Ofner D, Margreiter R, Widschwendter M. Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? *Lancet* 2004; 363: 1283-1285 [PMID: 15094274 DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16002-9]
- Chen WD, Han ZJ, Skoletsky J, Olson J, Sah J, Myeroff L, Platzer P, Lu S, Dawson D, Willis J, Pretlow TP, Lutterbaugh J, Kasturi L, Willson JK, Rao JS, Shuber A, Markowitz SD. Detection in fecal DNA of colon cancer-specific methylation of the non-expressed vimentin gene. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1124-1132 [PMID: 16077070 DOI: 10.1093/jnci/dji204]
- Itzkowitz S, Brand R, Jandorf L, Durkee K, Millholland J, Rabeneck L, Schroy PC, Sontag S, Johnson D, Markowitz S, Paszat L, Berger BM. A simplified, noninvasive stool DNA test for colorectal cancer detection. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2862-2870 [PMID: 18759824 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02088.x]
- Itzkowitz SH, Jandorf L, Brand R, Rabeneck L, Schroy PC, Sontag S, Johnson D, Skoletsky J, Durkee K, Markowitz S, Shuber A. Improved fecal DNA test for colorectal cancer screening. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 111-117 [PMID: 17161655 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.10.006]
- Melotte V, Lentjes MH, van den Bosch SM, Hellebrekers DM, de Hoon JP, Wouters KA, Daenen KL, Partouns-Hendriks IE, Stessels F, Louwagie J, Smits KM, Weijenberg MP, Sanduleanu S, Khalid-de Bakker CA, Oort FA, Meijer GA, Jonkers DM, Herman JG, de Bruïne AP, van Engeland M. N-Myc downstream-regulated gene 4 (*NDRG4*): a candidate tumor suppressor gene and potential biomarker for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 916-927 [PMID: 19535783 DOI: 10.1093/jnci/djp131]
- Hellebrekers DM, Lentjes MH, van den Bosch SM, Melotte V, Wouters KA, Daenen KL, Smits KM, Akiyama Y, Yuasa Y, Sanduleanu S, Khalid-de Bakker CA, Jonkers D, Weijenberg MP, Louwagie J, van Criekinge W, Carvalho B, Meijer GA, Baylin SB, Herman JG, de Bruïne AP, van Engeland M. GATA4 and GATA5 are potential tumor suppressors and biomarkers in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3990-3997 [PMID: 19509152 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0055]
- Mayor R, Casadomé L, Azuara D, Moreno V, Clark SJ, Capellà G, Peinado MA. Long-range epigenetic silencing at 2q14.2 affects most human colorectal cancers and may have application as a non-invasive biomarker of disease. *Br J Cancer* 2009; 100: 1534-1539 [PMID: 19384295 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605045]
- Abbaszadegan MR, Tavasoli A, Velayati A, Sima HR, Vosoughinia H, Farzadnia M, Asadzadeh H, Gholamin M, Dadkhah E, Aarabi A. Stool-based DNA testing, a new noninvasive method for colorectal cancer screening, the first report from Iran. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1528-1533 [PMID: 17561684 DOI: 10.3748/wjg.v13.i15.1528]

- 17461444]
- 12 Oberwalder M, Zitt M, Wöntner C, Fiegl H, Goebel G, Zitt M, Köhle O, Mühlmann G, Ofner D, Margreiter R, Müller HM. SFRP2 methylation in fecal DNA—a marker for colorectal polyps. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 15-19 [PMID: 17639423 DOI: 10.1007/s00384-007-0355-2]
- 13 Petko Z, Ghiassi M, Shuber A, Gorham J, Smalley W, Washington MK, Schultenover S, Gautam S, Markowitz SD, Grady WM. Aberrantly methylated CDKN2A, MGMT, and MLH1 in colon polyps and in fecal DNA from patients with colorectal polyps. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1203-1209 [PMID: 15709190]
- 14 Ausch C, Kim YH, Tsuchiya KD, Dzieciatkowski S, Washington MK, Paraskeva C, Radich J, Grady WM. Comparative analysis of PCR-based biomarker assay methods for colorectal polyp detection from fecal DNA. *Clin Chem* 2009; 55: 1559-1563 [PMID: 19541867 DOI: 10.1373/clinchem.2008.122937]
- 15 Li M, Chen WD, Papadopoulos N, Goodman SN, Bjerregaard NC, Laurberg S, Levin B, Juhl H, Arber N, Moinova H, Durkee K, Schmidt K, He Y, Diehl F, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW, Markowitz SD, Vogelstein B. Sensitive digital quantification of DNA methylation in clinical samples. *Nat Biotechnol* 2009; 27: 858-863 [PMID: 19684580 DOI: 10.1038/nbt.1559]
- 16 Huang Z, Li L, Wang J. Hypermethylation of SFRP2 as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer and precancerous lesions. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2287-2291 [PMID: 17410438 DOI: 10.1007/s10620-007-9755-y]
- 17 Wang DR, Tang D. Hypermethylated SFRP2 gene in fecal DNA is a high potential biomarker for colorectal cancer noninvasive screening. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 524-531 [PMID: 18203283 DOI: 10.3748/wjg.14.524]
- 18 Zhang W, Bauer M, Croner RS, Pelz JO, Lodygin D, Hermeking H, Stürzl M, Hohenberger W, Matzel KE. DNA stool test for colorectal cancer: hypermethylation of the secreted frizzled-related protein-1 gene. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 1618-1626; discussion 1626-1627 [PMID: 17762966]
- 19 Lenhard K, Bommer GT, Asutay S, Schauer R, Brabletz T, Göke B, Lamerz R, Kolligs FT. Analysis of promoter methylation in stool: a novel method for the detection of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 142-149 [PMID: 15704048 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00624-X]
- 20 Leung WK, To KF, Man EP, Chan MW, Hui AJ, Ng SS, Lau JY, Sung JJ. Detection of hypermethylated DNA or cyclooxygenase-2 messenger RNA in fecal samples of patients with colorectal cancer or polyps. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1070-1076 [PMID: 17378912 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01108.x]
- 21 Glöckner SC, Dhir M, Yi JM, McGarvey KE, Van Neste L, Louwagie J, Chan TA, Kleeberger W, de Bruïne AP, Smits KM, Khalid-de Bakker CA, Jonkers DM, Stockbrügger RW, Meijer GA, Oort FA, Iacobuzio-Donahue C, Bierau K, Herman JG, Baylin SB, Van Engeland M, Schuebel KE, Ahuja N. Methylation of TFPI2 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 4691-4699 [PMID: 19435926 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0142]
- 22 Kim MS, Louwagie J, Carvalho B, Terhaar Sive Droste JS, Park HL, Chae YK, Yamashita K, Liu J, Ostrow KL, Ling S, Guerrero-Preston R, Demokan S, Yalniz Z, Dalay N, Meijer GA, Van Criekinge W, Sidransky D. Promoter DNA methylation of oncostatin m receptor-beta as a novel diagnostic and therapeutic marker in colon cancer. *PLoS One* 2009; 4: e6555 [PMID: 19662090 DOI: 10.1371/journal.pone.0006555]
- 23 Bosch LJ, Oort FA, Neerinx M, Khalid-de Bakker CA, Terhaar sive Droste JS, Melotte V, Jonkers DM, Masclee AA, Mongera S, Grooteclaus M, Louwagie J, van Criekinge W, Coupé VM, Mulder CJ, van Engeland M, Carvalho B, Meijer GA. DNA methylation of phosphatase and actin regulator 3 detects colorectal cancer in stool and complements FIT. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012; 5: 464-472 [PMID: 22135045 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0315]
- 24 Ahlquist DA, Zou H, Domanico M, Mahoney DW, Yab TC, Taylor WR, Butz ML, Thibodeau SN, Rabeneck L, Paszat LF, Kinzler KW, Vogelstein B, Bjerregaard NC, Laurberg S, Sørensen HT, Berger BM, Lidgard GP. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. *Gastroenterology* 2012; 142: 248-256; quiz e255-256 [PMID: 22062357 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.031]
- 25 Nagasaka T, Tanaka N, Cullings HM, Sun DS, Sasamoto H, Uchida T, Koi M, Nishida N, Naomoto Y, Boland CR, Matsubara N, Goel A. Analysis of fecal DNA methylation to detect gastrointestinal neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1244-1258 [PMID: 19700653 DOI: 10.1093/jnci/djp265]
- 26 Huang ZH, Li LH, Yang F, Wang JF. Detection of aberrant methylation in fecal DNA as a molecular screening tool for colorectal cancer and precancerous lesions. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 950-954 [PMID: 17352030]
- 27 Baek YH, Chang E, Kim YJ, Kim BK, Sohn JH, Park DI. Stool methylation-specific polymerase chain reaction assay for the detection of colorectal neoplasia in Korean patients. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 1452-1459; discussion 1459-1463 [PMID: 19617759 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181a79533]
- 28 Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, Turnbull BA, Ross ME. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med* 2004; 351: 2704-2714 [PMID: 15616205 DOI: 10.1056/NEJMoa033403]
- 29 Kim MS, Lee J, Sidransky D. DNA methylation markers in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 181-206 [PMID: 20135198 DOI: 10.1007/s10555-010-9207-6]
- 30 Ahlquist DA, Shuber AP. Stool screening for colorectal cancer: evolution from occult blood to molecular markers. *Clin Chim Acta* 2002; 315: 157-168 [PMID: 11728417 DOI: 10.1016/S0009-8981(01)00712-4]

■同行评价

粪便中基因甲基化检测筛查结直肠癌的荟萃分析一文分析数据科学, 得出结论可靠, 是一篇较好的荟萃分析文章。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



miR-320在结直肠癌中的表达及意义

张丹华, 董明, 周建平

■背景资料

近来发现多种miRNA在大肠癌组织及大肠癌细胞系中异常表达, 参与调节细胞的增殖、分化和凋亡等基本活动, 进一步明确miRNAs在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病机制中的作用有助于提高CRC的诊治水平。

张丹华, 董明, 周建平, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

张丹华, 博士生, 主要从事结直肠癌相关基因及蛋白改变与其临床意义的研究。

辽宁省教育厅科技基金资助项目, No. 2008809

作者贡献分布: 张丹华主要负责研究过程与数据分析; 董明与周建平负责科研设计、试剂提供及论文写作。

通讯作者: 周建平, 教授, 硕士生导师, 110001, 辽宁省和平区北二马路南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。zjphama@163.com

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-07-08 修回日期: 2013-07-31

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Dysregulation of microRNA-320 expression in colorectal cancer

Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Jian-Ping Zhou

Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Jian-Ping Zhou, Department of General Surgery (Gastrointestinal Surgery), the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Department of Education of Liaoning Province, No. 2008809

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Department of General Surgery (Gastrointestinal Surgery), the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Bei'er Malu, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-07-08 Revised: 2013-07-31

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To detect the expression of miR-320 in colorectal cancer to reveal its relationship with clinical and pathological characteristics of colorectal cancer, and to investigate the effect of miR-320 overexpression on chemosensitivity of colorectal cancer cell lines.

METHODS: The expression of miR-34a was detected by real-time PCR in CRC tissues and tumor-adjacent non-tumorous tissues. HCT-116 and ClonA1 cell lines were transfected with either a LV-miR-320 or a negative control (NC). C-Jun N-terminal kinase (JNK) expression was measured by Western blot after up-regulation of miR-320. The chemosensitivity of cell lines was tested by MTT assay.

RESULTS: MiR-320 expression was significantly down-regulated in CRC cancer tissues compared with tumor-adjacent tissues ($P = 0.012$). The expression of miR-320 was correlated with degree of differentiation, local invasion and TNM stage ($P = 0.045, 0.012, 0.04$). Overexpression of miR-320 significantly suppressed the expression of JNK, and the IC₅₀ values for the LV-miR-320 group were significantly lower than those for the negative control group (11.34 vs 24.73, 12.56 vs 25.34, $P = 0.023, 0.018$).

CONCLUSION: MiR-320 is frequently down-regulated in CRC, which can repress the expression of JNK and modulate chemosensitivity of colorectal cancer cell lines. MiR-320 may play an important role in carcinogenesis and therapy of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: miR-320; JNK; Colorectal cancer; Chemosensitivity

Zhang DH, Dong M, Zhou JP. Dysregulation of microRNA-320 expression in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3592-3597 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3592.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3592>

摘要

目的: 探讨miR-320与结直肠癌临床病理因素间的关系, 寻找其下游调控蛋白, 及对结直肠癌细胞化疗敏感性的影响。

方法: 采用RT-PCR检测83例结直肠癌组织及癌旁组织中miR-320的表达, 结合结直肠癌临床病理指标分析其相关性, 用miR-320病毒转染HCT-116及ClonA1两株结直肠癌细胞系, Western blot检测其调控蛋白C-Jun氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的表达, 采用四甲基偶氮唑蓝显色法(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)检测LV-miR-320细胞株与阴性对照组间对5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)化疗的敏感性。

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

结果: 83例结直肠癌标本中miR-320的表达明显低于癌旁组织表达($P = 0.012$). miR-320表达与肿瘤分化程度相关, 高分化组织中表达较中低分化组织高, 与局部浸润深度及TNM分期相关($P = 0.012$, $P = 0.004$), 但不受患者性别、年龄、肿瘤的大小及位置的影响; 获得LV-miR-320稳定转染细胞株及阴性对照株(negative control, NC), Western blot结果显示LV-miR-320组JNK表达明显降低; LV-miR-320组HCT-116及ClonA1半数抑制浓度(IC_{50} 值)分别为11.34 $\mu\text{g/mL}$ 和12.56 $\mu\text{g/mL}$, NC组 IC_{50} 值分别为24.73 $\mu\text{g/mL}$ 和25.34 $\mu\text{g/mL}$ ($P = 0.023$, $P = 0.018$).

结论: miR-320在结直肠癌组织中呈低表达, 其在结直肠癌细胞中过表达后, 可明显抑制JNK蛋白翻译, 而显著增加细胞对5-Fu化疗的敏感性. 提示miR-320在结直肠癌的发生发展及治疗中起重要作用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: miR-320; C-Jun氨基端激酶; 结直肠癌; 化疗敏感性

核心提示: miR-320是新近发现的miRNA, 其在结直肠癌中的表达及其调控靶基因罕见研究报道, 本实验发现miR-320与结直肠癌的发生发展相关, 可部分降低下游c-Jun氨基末端激酶的表达, 在细胞水平, miR-320过表达可显著提高结直肠癌细胞对5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)化疗的敏感性, 使其有可能成为结直肠癌治疗的重点. 但他在结直肠癌及其他肿瘤发生发展中的具体作用机制尚不明确, 有待于我们进一步的实验研究.

张丹华, 董明, 周建平. miR-320在结直肠癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3592-3597 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3592.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3592>

0 引言

结直肠癌在世界范围内占女性癌症病死率的第3位, 男性病死率的第4位, 每年有一百多万的新发病例, 对人类的健康和生命有着严重危害^[1,2]. 尽管过去30年来, 结直肠癌患者的5年生存率有所提高^[3], 但是结直肠癌的发病机制尚不明确, 找到新的肿瘤标志物, 提高化疗敏感性依然是目前研究的重点和热点^[4-7].

近来研究发现多种miRNA在大肠癌组织及大肠癌细胞系中异常表达, 参与调节细胞的增殖、分化和凋亡等基本活动^[6,8-15], 进一步明确

miRNAs在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病机制中的作用有助于提高CRC的诊治水平. miR-320是新近发现的miRNA, 其在结直肠癌中的表达及其调控靶基因罕见研究报道. 本实验旨在观察结直肠癌与癌旁组织中miR-320的表达情况, 其表达与临床病理因素间的关系, 研究其过表达对下游靶基因蛋白表达的影响, 及对结直肠癌细胞系化疗敏感性的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007/2009在中国医科大学附属第一医院普通外科已告知患者并获得患者同意的, 行外科手术切除的结直肠癌及癌旁组织标本83例, 男35例, 女48例; 年龄25-89岁(平均60.02岁). 所有病例术前未作放化疗, 所有组织均经病理学证实为结直肠腺癌. 标本采集后放入液氮冷冻, -80 °C保存. 人结肠癌细胞株HCT-116和ClonA1源于中国医科大学细胞生物学实验室, 37 °C、50 mL/L CO₂孵箱, 含10%FBS Hyclone1640培养基培养. 由miRBase数据库(<http://microrna.sanger.ac.uk/>)查找基因序列, 用软件Primer-Express2.0进行引物设计. miR-320上游引物为5'-ACA CTC CAG CTG GGA AAA GCT GGG TTG AGA-3', 下游引物为5'-ACA CTC CAG CTG GGT CGC CCT C-3', 内参U6上游引物为5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', 下游引物5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3', 上述引物均由金斯瑞公司合成. TRIzol试剂购自Invitrogen公司; LV-miR-320及其阴性对照(negative control, NC)购自上海吉凯基因有限公司; 四甲基偶氮唑蓝显色法(methyl thiazolyl terazolium, MTT)试剂盒购自Sigma公司; 蛋白抽提试剂盒(上海卓康生物科技有限公司); C-Jun氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)抗体(Bio-World, 美国); GAPDH抗体(碧云天), 逆转录试剂盒(Takara, 日本); 荧光定量real-time PCR试剂盒(Takara, 日本).

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR检测标本中miR-320表达: 常规TRIzol试剂抽提总RNA, DEPC水溶解沉淀, 核酸蛋白分析仪(Beckman Coulter)测定RNA浓度, 根据RNA在 $A_{260/280} \geq 1.8$ 鉴定RNA纯度及完整性. 用茎环法行miR-320定量检测: 取总RNA 1 μg 加入无菌蒸馏水12 μL , 混匀后72 °C培养5 min以打开RNA二级结构, 随后立即置于冰上, 以防止RNA复性再次恢复二级结构. 在另一去RNase的PCR管中配置以下反应液: dNTP

■ 研发前沿

目前, 临床上结直肠癌患者术后需5-Fu为主的化疗以降低术后局部复发率, 延长生存时间, 提高5年生存率. 而结直肠癌耐药日益增多, 影响化疗效果及患者的远期疗效, 如何降低化疗耐药性, 是结直肠癌研究的一大热点.

■ 相关报道

林钊宇等发现在唾液腺腺样囊性癌中, miR-320通过调控integrin β 3表达, 有效降低腺样囊性癌的侵袭和迁移能力; 段慧茵等发现在苯丙砒暴露的小鼠支气管上皮细胞中, miR-320可调控细胞周期, 将细胞停滞于G₁期。

mixture 2.0 μ L、RNase inhibitor 0.5 μ L、miR-320反转录引物0.5 μ L、RNU6B反转录引物0.5 μ L、5 \times buffer 4.0 μ L、M-MLV反转录酶0.5 μ L, 配好后加入到刚才含总RNA的溶液中混匀, 42 $^{\circ}$ C培养60 min, 所得cDNA置于-20 $^{\circ}$ C保存。构建miR-320和RNU6B的RT-PCR反应体系: cDNA 5.0 μ L、Primers 1.0 μ L、SYBR Green荧光染料10 μ L、无菌蒸馏水8.0 μ L; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C变性10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s、65 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s, 共40个循环; 循环结束后72 $^{\circ}$ C延伸10 min, 每个标本均作复管PCR反应, 采用RNU6B作为内参, 以RNU6B拷贝数作为校正基数, 通过Light Cycler软件直接获得各样本中miR-320的Ct值, 与同样本中RNU6B的Ct值相减, 即获得该样本中miR-320的 Δ Ct值; 由于以RT-PCR定量RNA时, 受到不同RNA样本存在不同反转录效率的限制, 遂再以癌旁组织 Δ Ct值作为校正, 得出 $-\Delta\Delta$ Ct值, 按目的基因表达量 = $2^{-\Delta\Delta$ Ct}公式计算各样本中miR-320确切含量。以上实验均重复3次。

1.2.2 Western blot检测miRNA病毒转染后靶基因蛋白表达: 分别提取各组细胞总蛋白, 按试剂盒说明书进行。测定蛋白质浓度(考马斯亮蓝G-250染料法)。行SDS-PAGE电泳, 转膜, 封闭。加入一抗(JNK和GAPDH抗体稀释度分别为1:1000和1:5000)4 $^{\circ}$ C孵育12 h, 加二抗(均为1:5000)室温孵育2 h, 后行化学发光显色。

1.2.3 MTT法检测miRNA病毒转染后HCT-116及ClonA1细胞对术后需5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)化疗敏感性的影响: 取HCT-116和ClonA1转染LV-miR-549c及NC组对数生长期的细胞, 分别加入96孔板中, 每孔100 μ L, 含 1.0×10^4 个细胞。每组加入5-Fu使终浓度分别为1.25、2.5、5、10、20、40、80、160 μ g/mL, 每组细胞每个浓度设3复孔。50 mL/L CO₂孵箱中培养48 h后, 每孔中加入MTT(5 mg/mL)20 μ L, 继续培养4 h弃去培养液, 再加入二甲基亚砜150 μ L, 微量震荡约10 min, 于自动酶标仪450 nm处测定各孔吸光度值。根据公式: 抑制率 = (1-实验组平均A值/对照组平均A值) \times 100%, 根据抑制率计算得到半数抑制浓度(IC₅₀值)。

统计学处理 采用SPSS13.0行统计分析, 配对设计两两比较采用t检验; 肿瘤临床病理因素与miR-320表达水平之间的关系分析采用Mann-Whitney检验和Kruskal-Wallis检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

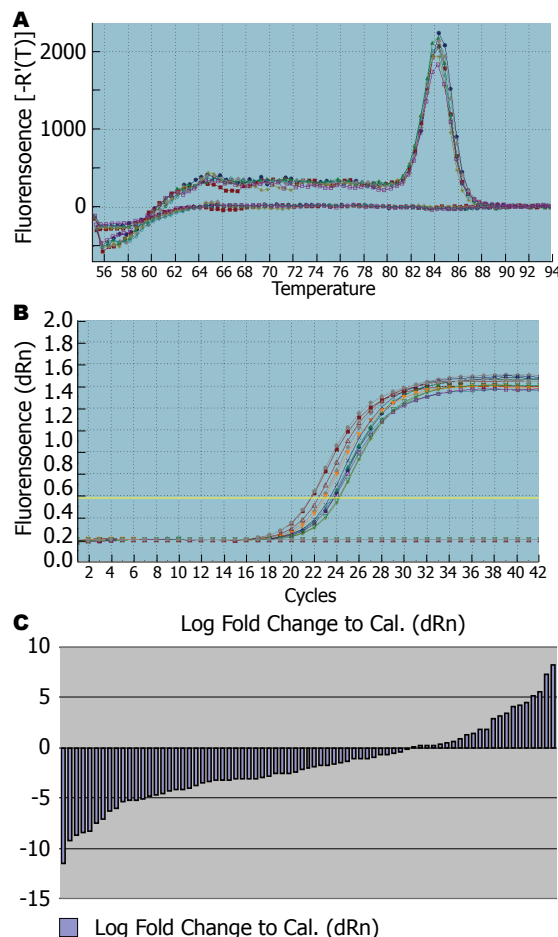


图1 结直肠癌和癌旁组织中miR-320 RT-PCR反应效果。A: miR-320 RT-PCR溶解曲线; B: miR-320 RT-PCR反应扩增曲线; C: RT-PCR检测miR-320在结直肠癌组织及癌旁组织中的表达。

2 结果

2.1 PCR反应效果及特异性 69例样本中miR-320 cDNA显示呈指数增长, 并扩增达平台期, 其扩增曲线为一组典型的S型曲线(图1A), 扩增效率理想。PCR完成后于溶解程序中收集荧光信号, 得到溶解曲线(图1B), 溶解温度均一, 峰形单一锐利, 证明反应特异性良好, 无非特异扩增、引物二聚体及发夹结构的出现。

2.2 miR-320在结直肠癌组织中表达情况及表达水平与结直肠癌临床病理因素间的关系 RT-PCR检测结果显示miR-320在癌组织中较癌旁组织明显降低, 差异有统计意义($P < 0.05$)(图1C), miR-320表达水平与肿瘤分化(高中分化 $P = 0.045$, 中低分化间 $P = 0.013$)、TNM分期($P = 0.04$)相关, 而与患者的性别、年龄、肿瘤部位、大小、淋巴结转移及远处转移无关(表1)。

2.3 建立miR-320高表达稳转CRC细胞系 用LV-miR-320病毒及其对照病毒NC转染HCT-116和ClonA两株细胞, 嘌呤霉素筛选转染后细胞, RT-

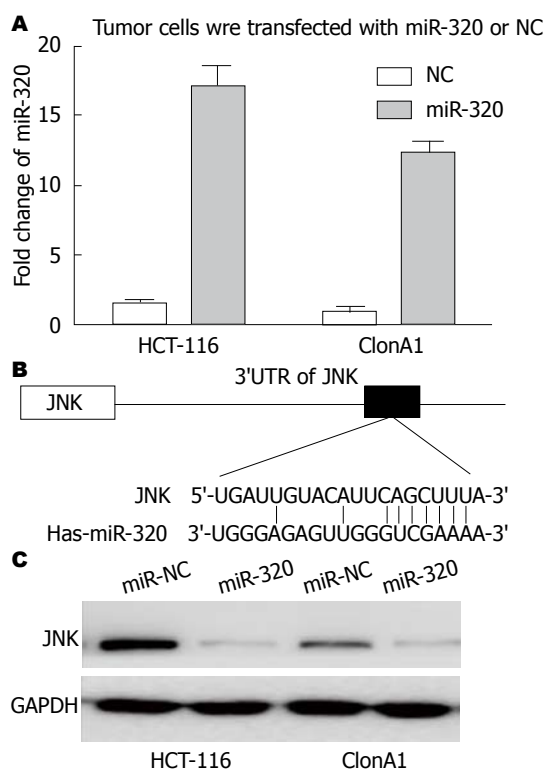


图2 细胞转染miR-320病毒后miR-320表达及下游靶蛋白的变化。A: HCT-116和ClonA1转染LV-miR-320及NC后RT-PCR检测miR-320表达变化; B: 生物信息学预测miR-320与JNK结合位点; C: 转染LV-miR-320相较于转染LV-NC JNK蛋白表达明显下降。

PCR检测其转染效率(图2A), 转染组miR-320表达量明显高于NC组, 形成稳转细胞系。

2.4 生物信息学预测miR-320下游蛋白 为了进一步阐述其在结直肠癌细胞中的作用机制, 我们用PicTar、TargetScan和miRanda等生物信息学软件预测, 发现JNK的3'-UTR区可与miR-320不完全结合(图2B)。Western blot结果显示JNK在LV-miR-320组细胞中表达明显低于LV-NC组(图2C)。

2.5 检测稳转细胞系对5-Fu化疗敏感性 miR-320能否通过降低细胞对5-Fu的耐药性, 增加化疗敏感性, 通过MTT验证。MTT检测LV-miR-320及LV-NC两组四株细胞5-Fu细胞毒性(IC₅₀)的变化(表2), HCT-116 LV-miR-320组与LV-NC组IC₅₀值分别为24.73 μg/mL±4.58 μg/mL、11.34 μg/mL±2.74 μg/mL、 $P=0.023$, ClonA1 LV-miR-320组(25.34 μg/mL±4.49 μg/mL)与LV-NC组(12.56 μg/mL±3.28 μg/mL)相比, IC₅₀值下降($P=0.018$), 化疗敏感性明显提高。

3 讨论

结直肠癌的发生是多因素、多步骤的发展过程,

表1 miR-320表达与结直肠癌患者临床病理因素间的关系

临床病理因素	n	miR-320 (mean ± SD)	P值
性别			
男	35	0.121 ± 0.949	0.787
女	48	0.109 ± 0.100	
年龄(岁)			
≤60	40	0.145 ± 0.999	0.453
>60	43	0.121 ± 0.997	
肿瘤位置			
结肠	32	0.101 ± 0.081	0.677
直肠	51	0.154 ± 0.120	
TNM分期			
I + II	34	0.187 ± 0.129	0.04
III + IV	49	0.076 ± 0.052	
局部浸润			
T1-T3	50	0.153 ± 0.112	0.012
T4	33	0.074 ± 0.071	
分化类型			
高	13	0.205 ± 0.102	0.045
中	50	0.143 ± 0.064	
低	20	0.054 ± 0.032	

同样也是多基因发生异常变化的过程, 随着研究的发展, 越来越多的分子生物学标志表达变化被确认与结直肠癌的发生有关^[7,16-19]。miRNA是存在于生物体内的一类长度约为19-22个核苷酸的非编码小分子RNA, 广泛存在于从线虫、植物、动物到人类的多种生物中, 参与基因转录后水平的调控, 其在个体生长发育、细胞增殖凋亡、炎症和肿瘤等多种生理病理过程中起着十分重要的作用, 而其失衡表达亦可促进多种人类疾病尤其是肿瘤的发生、发展, miRNA与肿瘤调控关系逐渐成为研究热点^[20-24]。多种miRNA在结直肠癌中的研究及作用机制已被确认, 而miR-320在结直肠癌中的表达及与结直肠癌发生发展的关系鲜有报道。

本研究发现, miR-320在结直肠癌中表达水平较癌旁组织显著下降, 一方面提示miR-320下调可能作为“抑癌基因”的表达缺失而参与了肿瘤始发及演进, miR-320过表达后, 可明显降低JNK的表达, 同时提高结直肠癌细胞对5-Fu的敏感性。另一方面提示miR-320与结直肠癌的发生有关: 结直肠癌的临床病理特征是判断肿瘤恶性程度及预后的主要依据, 本研究结果显示, TNM分期III+IV期的结直肠癌组织中miR-320表达水平显著低于I+II期结直肠癌组织; 分化程度低的结直肠癌组织miR-320表

■ 创新盘点

miR-320是新近发现的miRNA, 其在结直肠癌中的表达及其调控靶基因罕见研究报道。本实验旨在观察结直肠癌与癌旁组织中miR-320的表达情况以及对结直肠癌细胞系化疗敏感性的影响。

■应用要点

本实验发现miR-320与结直肠癌的发生发展相关,有可能是抑制结直肠癌侵袭转移的因子,为结直肠癌发病机制和诊断治疗的研究提供了新的思路 and 实验基础;在细胞水平,发现其过表达可显著提高结直肠癌细胞对5-Fu化疗的敏感性,使其有可能成为结直肠癌治疗的重点。

表 2 结直肠癌细胞中miR-320表达改变后对5-氟尿嘧啶化疗敏感性的变化

分组	IC ₅₀ (μg/ml)		P值
	LV-NC	LV-miR-320	
HCT-116	24.73 ± 4.58	11.34 ± 2.74	0.023
ClonA1	25.34 ± 4.49	12.56 ± 3.28	0.018

达水平显著低于高、中分化的结直肠癌组织。因此miR-320的低表达不仅与结直肠癌的发生有关,也与肿瘤的侵袭、浸润及分化程度相关。

JNK是丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)家族的一员, JNK信号通路可被细胞因子、生长因子、应激等多种因素激活,在Ras诱导的转化实验中, Ras介导c-Jun的磷酸化是由JNK完成的,提示JNK在细胞增殖、细胞凋亡、应激反应及肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[25-28]。通过生物信息学软件预测发现, JNK的3'-UTR区可与miR-320不完全结合,提示miR-320可作用于JNK,抑制JNK mRNA的翻译而调控JNK蛋白的表达,本研究中,通过Western blot证实miR-320过表达后, JNK的表达明显降低。miR-320在结直肠癌中可能通过抑制JNK的表达从而发挥其抑癌作用。

目前,临床上结直肠癌患者术后需5-Fu为主的化疗以降低术后局部复发率,延长生存时间,提高5年生存率。而结直肠癌耐药日益增多,影响化疗效果及患者的远期疗效,如何降低化疗耐药性,是结直肠癌研究的一大热点^[4,29]。本实验中,miR-320形成稳转细胞系过表达后,与LV-NC组相比, IC₅₀值下降,化疗敏感性明显提高。证实miR-320可提高化疗敏感性,但其具体作用机制,化疗敏感性的提高是否与JNK相关,尚需进一步实验研究。

总之,本实验发现miR-320与结直肠癌的发生发展相关,可部分降低下游JNK的表达,有可能是抑制结直肠癌侵袭转移的因子,为结直肠癌发病机制和诊断治疗的研究提供了新的思路 and 实验基础;在细胞水平,发现其过表达可显著提高结直肠癌细胞对5-Fu化疗的敏感性,使其有可能成为结直肠癌治疗的重点。但他在结直肠癌发生发展中的具体作用机制尚不明确,有待于我们进一步的实验研究。

4 参考文献

- 1 Yang Z, Kang L, Wang L, Xiang J, Cai G, Cui J, Peng

- J, Lan P, Wang J. Characteristics and long-term survival of colorectal cancer patients aged 44 years and younger. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 896-904 [PMID: 22855164 DOI: 10.1007/s12094-012-0876-1]
- 2 Bolino MC, Canseco S, Díaz D, Krayeski M, Sylvester G, Pedace M, Caro L, Cerisoli C. [Adherence of physicians to colorectal cancer screening: which is their compliance to this strategy?]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2012; 42: 33-39 [PMID: 22616495]
- 3 Agüero F, Murta-Nascimento C, Gallén M, Andreu-García M, Pera M, Hernández C, Burón A, Macià F. Colorectal cancer survival: results from a hospital-based cancer registry. *Rev Esp Enferm Dig* 2012; 104: 572-577 [PMID: 23368648]
- 4 Andreou A, Kopetz S, Maru DM, Chen SS, Zimmitti G, Brouquet A, Shindoh J, Curley SA, Garrett C, Overman MJ, Aloia TA, Vauthey JN. Adjuvant chemotherapy with FOLFOX for primary colorectal cancer is associated with increased somatic gene mutations and inferior survival in patients undergoing hepatectomy for metachronous liver metastases. *Ann Surg* 2012; 256: 642-650 [PMID: 22968062 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31826b4dccc]
- 5 Turan N, Benekli M, Koca D, Ustaalioglu BO, Dane F, Ozdemir N, Ulas A, Oztop I, Gumus M, Ozturk MA, Berk V, Kucukoner M, Uner A, Balakan O, Helvacı K, Ozkan S, Yilmaz U, Buyukberber S. Adjuvant systemic chemotherapy with or without bevacizumab in patients with resected liver metastases from colorectal cancer. *Oncology* 2013; 84: 14-21 [PMID: 23076023 DOI: 10.1159/000342429]
- 6 Pagliuca A, Valvo C, Fabrizi E, di Martino S, Biffoni M, Runci D, Forte S, De Maria R, Ricci-Vitiani L. Analysis of the combined action of miR-143 and miR-145 on oncogenic pathways in colorectal cancer cells reveals a coordinate program of gene repression. *Oncogene* 2013; 32: 4806-4813 [PMID: 23128394 DOI: 10.1038/onc]
- 7 Peeters M, Price T. Biologic therapies in the metastatic colorectal cancer treatment continuum--applying current evidence to clinical practice. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 397-406 [PMID: 21899955 DOI: 10.1016/j.ctrv]
- 8 Dong Y, Wu WK, Wu CW, Sung JJ, Yu J, Ng SS. MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: a clinical perspective. *Br J Cancer* 2011; 104: 893-898 [PMID: 21364594 DOI: 10.1038/bjc]
- 9 Aslam MI, Patel M, Singh B, Jameson JS, Pringle JH. MicroRNA manipulation in colorectal cancer cells: from laboratory to clinical application. *J Transl Med* 2012; 10: 128 [PMID: 22716183 DOI: 10.1186/1479-5876-10-128]
- 10 Tang JT, Fang JY. MicroRNA regulatory network in human colorectal cancer. *Mini Rev Med Chem* 2009; 9: 921-926 [PMID: 19601887]
- 11 Azimzadeh P, Romani S, Mohebbi SR, Mahmoudi T, Vahedi M, Fatemi SR, Zali N, Zali MR. Association of polymorphisms in microRNA-binding sites and colorectal cancer in an Iranian population. *Cancer Genet* 2012; 205: 501-507 [PMID: 22939228 DOI: 10.1016/j.cancergen]
- 12 Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]

- 13 Balaguer F, Moreira L, Lozano JJ, Link A, Ramirez G, Shen Y, Cuatrecasas M, Arnold M, Meltzer SJ, Syngal S, Stoffel E, Jover R, Llor X, Castells A, Boland CR, Gironella M, Goel A. Colorectal cancers with microsatellite instability display unique miRNA profiles. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6239-6249 [PMID: 21844009 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1424]
- 14 Beauchemin N. The colorectal tumor microenvironment: the next decade. *Cancer Microenviron* 2011; 4: 181-185 [PMID: 21735168 DOI: 10.1007/s12307-011-0074-7]
- 15 Link A, Balaguer F, Shen Y, Nagasaka T, Lozano JJ, Boland CR, Goel A. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1766-1774 [PMID: 20551304 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0027]
- 16 Morillas JD, Castells A, Oriol I, Pastor A, Pérez-Segura P, Echevarría JM, Caballero B, González-Navarro A, Bandrés F, Brullet E, Iniesta A, Carballo F, Bouzas R, Ariza A, Ibisate A, García-Alfonso P, Escudero B, Camacho S, Fernández-Marcos A, González T, Quintero E, Lanás A, Marzo M, Mascort J, Andréu M, Cerezo L, Vázquez-Sequeiros E, Borrás JM, Salas D, Asuncion N, Portillo I, Herráiz M, Valle ML, Sotoca A, Nieto S, Hué C, Paz-Ares L. [The Alliance for the Prevention of Colorectal Cancer in Spain. A civil commitment to society]. *Gastroenterol Hepatol* 2012; 35: 109-128 [PMID: 22365571 DOI: 10.1016/j.gastrohep]
- 17 He K, Jin K, Wang H, Teng L. Anti-angiogenic therapy for colorectal cancer: on the way to getting better! *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1113-1117 [PMID: 22580661 DOI: 10.5754/hge10722]
- 18 Ng F, Ganeshan B, Kozarski R, Miles KA, Goh V. Assessment of primary colorectal cancer heterogeneity by using whole-tumor texture analysis: contrast-enhanced CT texture as a biomarker of 5-year survival. *Radiology* 2013; 266: 177-184 [PMID: 23151829 DOI: 10.1148/radiol.12120254]
- 19 Troiani T, Martinelli E, Orditura M, De Vita F, Ciardiello F, Morgillo F. Beyond bevacizumab: new anti-VEGF strategies in colorectal cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21: 949-959 [PMID: 22612461 DOI: 10.1517/13543784]
- 20 Pellegrino L, Jacob J, Roca-Alonso L, Krell J, Castellano L, Frampton AE. Altered expression of the miRNA processing endoribonuclease Dicer has prognostic significance in human cancers. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013; 13: 21-27 [PMID: 23259424 DOI: 10.1586/era.12.150]
- 21 Pereira DM, Rodrigues PM, Borralho PM, Rodrigues CM. Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics. *Drug Discov Today* 2013; 18: 282-289 [PMID: 23064097 DOI: 10.1016/j.drudis.2012.10.002]
- 22 Asrih M, Steffens S. Emerging role of epigenetics and miRNA in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Pathol* 2013; 22: 117-125 [PMID: 22951386 DOI: 10.1016/j.carpath]
- 23 Akbari Moqadam F, Pieters R, den Boer ML. The hunting of targets: challenge in miRNA research. *Leukemia* 2013; 27: 16-23 [PMID: 22836911 DOI: 10.1038/leu]
- 24 Ishida M, Selaru FM. miRNA-Based Therapeutic Strategies. *Curr Anesthesiol Rep* 2013; 1: 63-70 [PMID: 23524956]
- 25 Davies C, Tournier C. Exploring the function of the JNK (c-Jun N-terminal kinase) signalling pathway in physiological and pathological processes to design novel therapeutic strategies. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 85-89 [PMID: 22260670 DOI: 10.1042/BST20110641]
- 26 Chen F. JNK-induced apoptosis, compensatory growth, and cancer stem cells. *Cancer Res* 2012; 72: 379-386 [PMID: 22253282 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1982]
- 27 Seki E, Brenner DA, Karin M. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology* 2012; 143: 307-320 [PMID: 22705006 DOI: 10.1053/j.gastro]
- 28 Sabapathy K. Role of the JNK pathway in human diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012; 106: 145-169 [PMID: 22340717 DOI: 10.1016/B978-0-12-396456-4.00013-4]
- 29 Hong X, Chen G, Wang M, Lou C, Mao Y, Li Z, Zhang Y. STAT5a-targeting miRNA enhances chemosensitivity to cisplatin and 5-fluorouracil in human colorectal cancer cells. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1215-1219 [PMID: 22367509 DOI: 10.3892/mmr.2012.801]

■同行评价

本文具有较高的学术价值, 为临床研究结直肠癌提供了一定的方向。

编辑 田滢 电编 闫晋利



系统性护理干预对直肠癌术后化疗患者癌因性疲乏的影响

宋春艳

■背景资料

直肠癌是我国常见恶性肿瘤之一,根据近期调查发现,随着人们生活水平的提高,饮食习惯的改变,直肠癌的发病率呈上升趋势。癌因性疲乏严重影响着患者的日常生活及生活质量,对癌因性疲乏患者进行系统的护理干预,减轻患者的疲乏,可保证直肠癌术后化疗患者的康复情况和提高患者生活质量。

宋春艳, 重庆市北碚区中医院 重庆市 400700

宋春艳, 主要从事癌症护理的研究。

作者贡献分布: 本文由宋春艳独立完成。

通讯作者: 宋春艳, 主管护师, 400700, 重庆市北碚区将军路380号, 重庆市北碚区中医院. 453993419@qq.com

收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-09-20

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-18

Systemic nursing intervention relieves chemotherapy-related fatigue in patients with colon cancer

Chun-Yan Song

Chun-Yan Song, Beibei District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400700, China

Correspondence to: Chun-Yan Song, Supervisor Nurse, Beibei District Hospital of Traditional Chinese Medicine, 380 Jiangjun Road, Beibei District, Chongqing 400700, China. 453993419@qq.com

Received: 2013-06-23 Revised: 2013-09-20

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To assess the influence of systemic nursing intervention on chemotherapy-related fatigue in patients with colon cancer.

METHODS: One hundred and twenty hospitalized patients with colon cancer treated between October 2010 and October 2012 were randomly divided into either an experimental group or a control group, with 60 patients in each group. The control group was given conventional nursing, and the experimental group was additionally given systematic nursing intervention measures on the basis of conventional nursing. After three weeks, cancer-related fatigue was compared between the two groups.

RESULTS: Before intervention, patients of the two groups had comparable gender (men: 27 cases vs 29 cases; women: 33 cases vs 31 cases), educational degree, and degree of cancer-related fatigue (all $P > 0.05$). After intervention, the degree of cancer-related fatigue was significantly lighter in the experimental group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Systematic nursing intervention, including individualized health education and psychological counseling, social psychological support, sleep intervention and individualized aerobic exercise and pain therapy, can reduce the degree of cancer-related fatigue and improve quality of life in patients with colon carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Systematic nursing intervention; Colon carcinoma; Chemotherapy; Cancer-related fatigue; Brief fatigue inventory

Song CY. Systemic nursing intervention relieves chemotherapy-related fatigue in patients with colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3598-3601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3598.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3598>

摘要

目的: 探讨系统性护理干预对直肠癌术后化疗患者癌因性疲乏的影响。

方法: 选择2010-06/2012-10的住院患者120例为研究对象, 年龄32-64岁, 随机分为实验组和对照组, 各60例患者, 对照组只给予常规护理, 而实验组在常规护理的基础上再进行因症及因人的个体的、系统的护理干预措施, 3 wk后比较两组的癌因性疲乏程度。

结果: 干预前, 两组患者性别(对照组男27例, 女33例; 实验组男29例, 女31例)、年龄(32-64岁)、文化程度、癌因性疲乏程度比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性; 干预后, 实验组癌因性疲乏程度轻于对照组, 经统计软件SPSS16.0分析, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 对直肠癌术后化疗患者采取因人及因症的个体系统护理干预, 包括个体化健康教育及心理疏导、社会心理支持、睡眠干预和造瘘口的护理、个体化有氧运动及疼痛疗法等可以减轻癌因性疲乏程度, 提高癌症患者的生活质量。

■同行评议者

李小荣, 教授, 中南大学湘雅三医院普外二科

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 系统性护理干预; 直肠癌术后; 化疗; 癌因性疲乏; 简易疲乏量表

核心提示: 在常规护理的基础上再进行因症及因人的个体的、系统的护理干预措施: 心理护理、休息睡眠干预、有氧运动、结肠造瘘的正确护理, 预防结肠造口狭窄等措施, 减轻了直肠癌患者的癌因性疲乏, 提高了患者的生活质量.

宋春艳. 系统性护理干预对直肠癌术后化疗患者癌因性疲乏的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3598–3601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3598.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3598>

0 引言

直肠癌是我国常见恶性肿瘤之一, 根据近期调查发现, 随着人们生活水平的提高, 饮食习惯的改变, 直肠癌的发病率呈上升趋势^[1], 其发病率在全国平均水平居全部恶性肿瘤的第4位^[2], 而我国每年新增加的永久性肠造口患者约10万例^[3]. 癌因性疲乏^[4,5](cancer related fatigue, CRF)是一种痛苦的、持续的、主观的乏力感或疲惫感, 与活动不成比例, 与癌症或癌症治疗相关, 并常伴有功能障碍. 癌因性疲乏严重影响着患者的日常生活及生活质量, 对癌因性疲乏患者进行系统的护理干预, 减轻患者的疲乏, 可保证直肠癌术后化疗患者的康复情况和提高患者生活质量. 为了研究系统护理干预对直肠癌术后化疗患者癌因性疲乏的影响, 我科护理组对2010-06/2012-10的直肠癌术后化疗期间住院患者120例进行了护理研究, 现将实验报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-06/2012-10在我科住院的直肠癌术后化疗患者120例为研究对象, 用简易疲乏量表^[6](brief fatigue inventory, BFI)对其进行评估, 均有不同程度的癌因性疲乏. 选取标准: (1)首次经病理学诊断为直肠癌, 无转移、无精神疾病及其他慢性疾病; (2)年龄≥32岁, 都有术后结肠造瘘, 并接受化疗, 住院时间>21 d; (3)无意识障碍, 无术后并发症, 能理解并配合问卷调查, 并自愿参与调查. 将满足以上条件的120例患者随机分为实验组60例, 对照组60例. 经统计软件SPSS16分析两组患者性别、年龄、文化程度、癌因性疲乏程度差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性(表1, 2).

表 1 干预前两组CRF程度情况(n)

分组	无疲乏	轻度疲乏	中度疲乏	重度疲乏
对照组	0	15	25	20
实验组	0	17	22	21

CRF: 癌因性疲乏.

表 2 干预前两组CRF程度比较结果(秩和检验)($n = 60$)

分组	秩均值	秩和	P 值
对照组	60.79	3647.5	0.922
实验组	60.21	3612.5	

CRF: 癌因性疲乏.

1.2 方法

1.2.1 研究: 对对照组60例患者进行常规护理, 由主管护士执行. 而实验组60例患者在常规护理的基础上再进行因症及因人的个体的、系统的护理干预措施, 由主管护士每日观察了解患者的病情、精神睡眠情况、心理情况、社会支持情况, 然后制定个体化的护理干预措施, 并有效地实施护理干预, 每日给予及时的评价, 评价效果后签名.

1.2.2 简易疲乏量表的使用: BFI^[7]属自评量表, 是癌因性疲乏患者常用的自评工具, 采用10分制数字描述, 疲乏程度评估标准: 无疲乏, 数值为0; 程度最轻, 评分为1分; 程度最重评分为10分; 1-3分为轻度疲乏, 4-6分为中度疲乏, 7-10分为重度疲乏. 于3 wk后对两组患者发放简易疲乏量表进行自测量.

1.2.3 护理干预措施: 对实验组60例患者由主管护士每日动态观察了解患者的病情、精神睡眠情况、心理情况、社会支持情况, 然后制定个体化的护理干预措施.

(1)健康教育: 向患者及家属详细解释直肠癌、癌因性疲乏的相关知识, 使患者正确了解癌因性疲乏的原因及应对措施, 使患者及家属明白癌因性疲乏对病情的发展及预后起着不可忽视的作用, 要积极应对, 控制病情发展, 提高生存质量; (2)心理护理: 鼓励患者接受患病事实, 保持乐观向上的心态, 建立自信战胜疾病与疼痛^[8]; (3)恶心、呕吐及疼痛的护理: 对化疗后出现恶心、呕吐的患者给予对症处理, 如遵医嘱给予保护胃黏膜的药物, 防止胃黏膜损伤; 呕吐后及时漱口, 保持口腔清洁. 对有疼痛的患者,

■研究前沿

在常规护理的基础上再进行因症及因人的个体的、系统的护理干预措施, 使用简易疲乏量表进行评估, 体现护理模式已经由传统生物医学护理模式向生物-心理-社会医学护理模式转变.

■相关报道

作者阅读过乳腺癌、肝癌及直肠癌术后癌因性疲乏的相关文章, 通过系统的护理干预, 尤其是休息睡眠时间的干预以及帮助患者建立良好的社交关系, 患者癌因性疲乏都有减轻.

■创新盘点

本文的创新点是在常规护理的基础上再进行因症及因人的个体的、系统的护理干预措施。

表 3 干预后两组CRF程度情况(n)

分组	无疲乏	轻度疲乏	中度疲乏	重度疲乏
对照组	0	16	23	21
实验组	12	15	17	16

CRF: 癌因性疲乏。

表 4 干预后两组CRF程度比较结果(秩和检验)(n = 60)

分组	秩均值	秩和	P值
对照组	67.51	4050.5	0.021
实验组	53.49	3209.5	

CRF: 癌因性疲乏。

给予心理安慰及分散注意力疗法,如听自己喜欢的音乐,必要时给予药物止痛。严密观察患者的病情变化,如化疗期间患者有白细胞下降,及时通知医生处理;(4)结肠造瘘的护理:由专科护士耐心细致地向患者及家属讲解结肠造口相关知识,说明结肠造瘘的重要性,使患者接受。并指导患者和家属正确更换造口袋,介绍结肠造瘘的护理方法,提高患者自我护理能力。开放造口后,及时清除造口处的分泌物及渗出物,及时更换敷料,保护造口周围的皮肤,防止感染^[9],养成一种造口定时排便习惯,每天由造口定时地注入生理盐水大约80-100 mL或是注凉开水大约300-400 mL,清洗肠道,减少患者不定时的粪便排出,有助于患者参加工作和进行社会活动^[10];预防造口狭窄:操作者在食指和中指涂上石蜡油,然后缓慢插入患者造口至2-3指指关节的地方,停留3-5 min,1次/d,动作轻柔,手指插入造口不能太深,在手指通过腹壁肌层至腹膜层的地方为最佳位置^[11];(5)饮食护理:嘱患者进食应多样化,进食营养丰富的食物,禁食煎炸辛辣等刺激性及易产气的食物。询问患者喜欢的食物,联系营养师制定个体化的饮食;(6)有氧运动:当患者病情稳定时进行适量的有氧运动,改善体质,增强抵抗能力,每天督促进行,如在病室走廊散步、爬楼梯、保健操等,时间在30-40 min为宜;(7)休息和睡眠干预:调整睡眠时间,避免长时间午睡,白天限制躺在床上时间,鼓励患者多进行户外活动,建立合理的生活规律。晚上休息之前避免剧烈运动及进食兴奋性的食物,调整夜间护理操作时间,减少夜间休息时对患者的各种刺激,提高患者的睡眠质量。

■应用要点

本文总结了减轻癌症患者术后化疗期间的癌因性疲乏的护理措施及经验,如结肠造瘘的护理改进,可供临床应用。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理。

等级资料的比较采用秩和检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

3 wk后对两组患者发放简易疲乏量表进行自测量(表3, 4)。经统计软件SPSS16分析两组患者癌因性疲乏程度,秩和检验,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干预后实验组癌因性疲乏程度轻于对照组。

3 讨论

直肠癌是消化系常见肿瘤,直肠癌术后化疗期间极易出现癌因性疲乏,严重影响患者的生活质量。系统性护理干预可减轻癌因性疲乏程度,改善患者的精神面貌,从而提高患者的生活质量。(1)详细的健康教育,使患者及家属充分了解直肠癌及癌因性疲乏的诱因与相关知识、使患者积极参与到疾病的预防与康复训练中来;(2)心理护理,消除患者消极心态,树立起战胜疾病的信心;(3)有氧运动,可有效减轻和消除疲劳,改善患者的体质,增强患者的抵抗疾病的能力;(4)正确的造瘘口护理^[12],有效减少了并发症的发生,提高了患者参与社会活动的积极性;(5)休息与睡眠干预,调整患者休息时间,提高患者夜间睡眠质量,从而修复患者精神面貌,使直肠癌患者术后化疗期间生活状况有了显著改善。

本实验部分证实了系统性护理干预措施影响着直肠癌术后化疗患者的恢复状况,系统性护理干预的实施可减轻癌因性疲乏的程度,提高患者生活质量,对疾病的预后起着不可忽视的作用。本文认为我们医务人员应高度重视癌因性疲乏对患者及家属带来的影响,对各护理措施进行深入研究,以期待更有效的保持癌症患者化疗期间的良好恢复状况,提高癌症化疗患者的生存率和生活质量。

4 参考文献

- 1 周晓东,吕农华. 大肠癌的流行病学研究现状. 现代消化及介入诊疗 2006; 11: 149-151
- 2 王强,郑海涛,丁德祥. 结直肠癌的流行病学和筛查进展. 中国现代医生 2008; 46: 103-104
- 3 曹伟新. 外科护理学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 266
- 4 吴婉英. 癌因性疲乏的研究进展. 护理与康复 2004; 3: 310-311
- 5 李铮. 癌因性疲乏的概念分析及其护理措施. 护理学杂志 2006; 21: 75-77
- 6 颜斐斐,张立力. 结直肠癌术后患者癌因性疲乏与焦虑抑郁关系的研究. 护理学杂志 2009; 24: 83-85

- 7 韩娜, 于世英. 癌症患者的乏力状况调查及影响因素. 肿瘤防治研究 2006; 33: 910-911
- 8 博军. 心理护理对直肠癌术后患者心理状态、治疗依从性和免疫功能的影响. 中国实用护理杂志 2012; 28: 67-68
- 9 陈爱华, 吴朝辉, 郑彬彬, 马婧. 直肠癌保肛术后并发吻合口瘘的观察与护理. 护士进修杂志 2010; 25: 901-903
- 10 谢素美. 综合护理干预对直肠癌术后人工肛门患者生活质量的影响分析. 护士进修杂志 2013; 28: 203-205
- 11 刘颖. 直肠癌术后肠造瘘口的护理体会. 全科护理 2013; (3): 1271
- 12 钟华, 庞娟, 黄翠梅, 邓玉军. 直肠癌术后结肠造口患者的护理. 中国实用护理杂志 2008; 24: 32-33

■同行评价

本文为提高癌症化疗患者的生活质量和生存率的研究提供了一定的理论依据。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价

何继东, 王一平, 张 兰, 杨秀蓉

■背景资料

胶囊内镜目前已成为一种常规临床检查手段, 尤其对于小肠疾病的诊断, 但胶囊内镜全小肠检查的未完成率达20%左右, 胶囊内镜检查前口服莫沙必利可缩短胃排空时间和小肠通过时间, 提高小肠检查完成率, 但目前是否已有充分的证据支持该方法在胶囊内镜检查中的应用尚无定论。

何继东, 张兰, 杨秀蓉, 雅安市第二人民医院消化内科 四川省雅安市 625000

王一平, 四川大学华西医院消化科 四川省成都市 610041

何继东, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的循证治疗。

作者贡献分布: 何继东、张兰及杨秀蓉负责文献检索、文献质量评价、提取资料及论文撰写; 王一平负责论文审阅及修改。

通讯作者: 杨秀蓉, 副主任医师, 625000, 四川省雅安市雨城区南三路48号, 雅安市第二人民医院。hjdshare@sina.com

收稿日期: 2013-07-10 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-10-18 在线出版日期: 2013-11-18

Effect of mosapride on capsule endoscopy: A systematic review of randomized controlled trials

Ji-Dong He, Yi-Ping Wang, Lan Zhang, Xiu-Rong Yang

Ji-Dong He, Lan Zhang, Xiu-Rong Yang, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Ya'an, Ya'an 625000, Sichuan Province, China

Yi-Ping Wang, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiu-Rong Yang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Ya'an, 48 Nansan Road, Yucheng District, Ya'an 625000, Sichuan Province, China. hjdshare@sina.com

Received: 2013-07-10 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-10-18 Published online: 2013-11-18

Abstract

AIM: To assess the effect of mosapride on capsule endoscopy.

METHODS: We searched Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), MEDLINE or PubMed, and Chinese VIP database. The bibliographies of retrieved articles and correlated proceedings were also searched manually. A systematic review was conducted using the method recommended by the Cochrane Collaboration.

RESULTS: Seven trials involving 500 patients were included in the systematic review. Meta-analysis showed that mosapride was superior to the blank control in terms of gastric emptying time ($P < 0.00001$), small-bowel transit time ($P < 0.00001$) and the completion rate of small bowel examination ($P < 0.00001$); however, mosapride

was not superior to the blank control in the diagnostic yield ($P = 0.05$).

CONCLUSION: The limited current evidence shows that mosapride decreases gastric emptying time and improves the completion rate of total small-bowel examination in patients undergoing capsule endoscopy. However, all these findings should be interpreted with caution and more clinical trials are needed.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mosapride; Capsule endoscopy; Systematic review; Meta-analysis

He JD, Wang YP, Zhang L, Yang XR. Effect of mosapride on capsule endoscopy: A systematic review of randomized controlled trials. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(32): 3602-3607 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3602>

摘要

目的: 系统评价莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的有效性和安全性。

方法: 计算机全面检索Cochrane图书馆临床对照试验数据库(2013-01)、MEDLINE或PubMed(1978-2013)、Ovid(1978-2013)、维普中刊数据库(1989-2013)、中国期刊全文数据库(1979-2013)等。手工检索《中华消化杂志》等4种相关中文期刊、相关会议论文集及所有检索到文献的参考文献。按Cochrane协作网推荐的方法进行系统评价。

结果: 共纳入7个RCT(包括500例患者)。Meta分析结果显示: (1)胃排空时间: 莫沙必利组优于空白对照($P < 0.00001$); (2)小肠通过时间: 莫沙必利组优于空白对照($P < 0.00001$); (3)小肠检查完成率: 莫沙必利组优于空白对照($P < 0.00001$); (4)胶囊内镜诊断率: 莫沙必利组不优于空白对照($P = 0.05$)。

结论: 基于目前的证据, 我们认为, 胶囊内镜

■同行评议者

刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室

检查前口服莫沙必利能缩短胃排空时间, 提高小肠检查完成率, 但上述结果解释应慎重, 有待进一步循证医学的证据。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 莫沙必利; 胶囊内镜; 系统评价; Meta分析

核心提示: 本文对国内外发表的莫沙必利在胶囊内镜中应用的随机对照试验进行Meta分析提示, (1)胃排空时间: 莫沙必利组优于空白对照($P<0.00001$); (2)小肠通过时间: 莫沙必利组优于空白对照($P<0.00001$); (3)小肠检查完成率: 莫沙必利组优于空白对照($P<0.00001$); (4)胶囊内镜诊断率: 莫沙必利组不优于空白对照($P=0.05$)。

何继东, 王一平, 张兰, 杨秀蓉. 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3602–3607
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i32.3602>

0 引言

自2003年胶囊内镜在我国应用以来, 目前已成为一种常规临床检查手段, 尤其对于小肠疾病的诊断^[1], 但因受其电池供电量的限制和肠道内不洁等因素的影响, 胶囊内镜全小肠检查的未完成率达20%左右^[2]. 有临床研究显示, 胶囊内镜检查前进行肠道准备(如聚乙二醇溶液、口服磷酸钠、二甲硅油), 可改善肠道的清洁质量, 提高观察效果, 使用促胃肠动力药(如胃复安、红霉素、多潘立酮、替加色罗)可加快胶囊的推进, 从而提高小肠检查的完成率^[3-9], 但最佳的用药类型和剂量、给药时机等, 目前仍未达成共识^[9].

莫沙必利作为一种作用明确、安全的促胃肠动力药物, 在临床上广泛应用. 近期Ida等^[10]纳入232患者的回顾性研究显示, 胶囊内镜检查前口服莫沙必利可缩短胃排空时间和小肠通过时间, 提高小肠检查完成率, 但目前国内外关于莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的随机对照试验报道较少, 且研究样本量较小, 是否已有充分的证据支持该方法在胶囊内镜检查中的应用尚无定论.

本研究按照Cochrane系统评价方法, 对莫沙必利在胶囊内镜检查前中应用的临床有效性和安全性进行评价, 以期临床提供最佳证据.

1 材料和方法

1.1 材料 纳入所有莫沙必利在胶囊内镜检查中

应用的临床随机对照试验的全文及摘要, 不分文种.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: 纳入患者的年龄、性别不限, 接受莫沙必利在胶囊内镜检查前中应用的患者均被纳入.

1.2.2 排除标准: 对莫沙必利过敏者; 已知或怀疑存在肠道梗阻、狭窄及瘘管者; 怀孕或哺乳者; 糖尿病、甲状腺疾病患者; 各试验自定标准.

1.2.3 干预措施: 试验组为莫沙必利, 药物的剂量不限, 给药的时间和次数不限. 对照组可采用安慰剂、空白或其他治疗方法. 试验组和对照组可同时接受相同的其他干预措施, 但仅一组联用其他干预措施的试验不纳入.

1.2.4 疗效评价指标: (1)主要指标: 胃排空时间、小肠通过时间、小肠检查完成率; 小肠图像质量评分; (2)次要指标: 胶囊内镜诊断率、不良反应发生率等.

1.2.5 检索策略: 计算机检索Cochrane图书馆临床对照试验(2013-01)、MEDLINE或PubMed数据库(1978-2013年)、中国生物医学文献数据库(CBMDisc)(1978-2013年)等数据库. 手工检索美国消化内镜学会会议论文及美国胃肠病学会会议论文、《中华消化杂志》、《中华消化内镜杂志》等. 查阅所获资料的参考文献索引, 手检相关文献.

1.2.6 资料提取和质量评价: 由两名评价员独立进行文献质量评价, 按照设计好的表格提取资料并交叉核对, 纳入文献的方法学质量评价采用Cochrane系统评价员手册4.2.2推荐的方法来进行.

统计学处理 采用Cochrane协作组提供的RevMan4.2软件. 各临床试验的异质性检验采用卡方检验, 若无异质性, 选择固定效应模型进行Meta分析, 否则选择随机效应模型或进行定性的系统评价. 计数资料计算Peto OR或OR及其95%CI. 对于计量资料, 计算加权均数差值(WMD)及其95%CI. 将各种处理后Meta分析的结果进行比较, 观察有无统计学差异, 若无统计学差异, 则报道合并的Meta分析结果.

2 结果

2.1 各临床试验的特点和方法学质量 最初检索到相关文章156篇, 其中计算机检索147篇, 手检9篇. 阅读题目及摘要后, 排除综述类文章及信件, 筛选得到临床试验10篇, 其中可能符合纳入

■研发前沿

如何提高胶囊内镜检查的成功率, 提高小肠检查的完成率是目前临床亟待解决的问题, 而目前对肠道准备及促胃肠动力药物在胶囊内镜检查中应用的利与弊, 有效性和安全性尚缺乏循证医学的证据.

■相关报道

国内外临床研究显示, 胶囊内镜检查前进行肠道准备可改善肠道的清洁质量, 提高观察效果, 使用促胃肠动力药可加快胶囊的推进, 从而提高小肠检查的完成率. 莫沙必利作为一种作用明确、安全的促胃肠动力药物, 在胶囊内镜检查中应用显示出良好前景.

■创新盘点

采用循证医学的方法,全面收集世界范围内莫沙必利在胶囊内镜中应用的随机对照试验,按Cochrane协作网推荐的方法进行系统评价。

表 1 纳入随机对照试验的质量评估及研究特征

试验	n	基线情况	随机方法	盲法	分配隐藏	退出失访情况	干预措施	
							试验组	对照组
Wei等 ^[11] 2007	60	C	R by D	Un	Un	Y	莫沙必利10 mg n = 30	空白对照 n = 30
高日金 ^[12] 2009	70	C	R by D	Un	Un	Y	莫沙必利10 mg n = 35	空白对照 n = 35
王莎莎等 ^[13] 2012	30	C	Un	Un	Un	Y	莫沙必利10 mg n = 15	空白对照 n = 15
张颖等 ^[14] 2013	40	C	Un	Un	Un	Y	莫沙必利10 mg n = 19	空白对照 n = 21
何洁等 ^[15] 2011	40	C	Un	Un	Un	Y	莫沙必利5 mg n = 20	空白对照 n = 20
许静等 ^[16] 2012	130	C	Un	Un	Un	Y	莫沙必利5 mg n = 65	空白对照 n = 65
谢春生等 ^[17] 2011	130	C	Un	Un	Un	Y	聚乙二醇1.5-2 L联合莫沙必利10 mg n = 65	聚乙二醇1.5-2 L n = 65

C: 可比/Comparable; Un: 不清楚/Unclear; R by D: 计算机随机; DB: 双盲; SB: 单盲; Ad: 充分; Y: 报告清楚。

Review: 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价

Comparison: 01莫沙必利 vs 空白对照

Outcome: 01胃排空时间

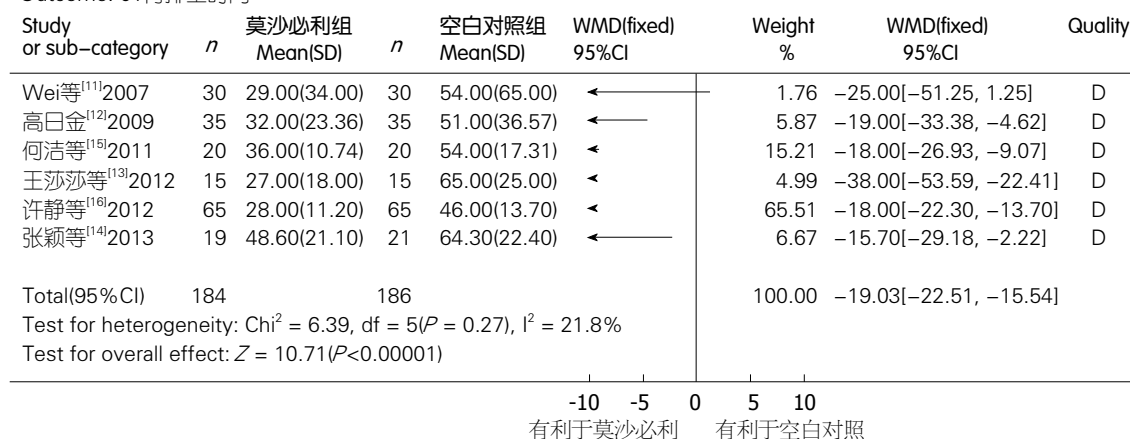


图 1 莫沙必利 vs 空白对照对胃排空时间影响的Meta分析。

标准的文章8篇。仔细查阅全文后,排除1篇重复发表的文献。最后共7个试验^[11-17],包括501例患者符合纳入标准进入本系统评价。7篇^[11-17]均以全文形式发表。1篇为英文文献^[11],6篇为中文文献^[12-17]。所纳入的试验均有明确的纳入标准和排除标准。仅2个试验^[11,12]描述了随机序列产生的方法;所有试验^[11-17]均未采用盲法及对分配方案进行充分的隐藏。7个试验^[11-17]明确指出两组基线情况具有可比性(表1)。

2.2 统计分析

2.2.1 莫沙必利与空白对照的比较: (1)胃排空时间: 6个RCT^[11-16](包括370例患者)提供了对胃

排空时间影响的资料。各试验间无异质性($P = 0.27$),故采用固定效应模型进行Meta分析。结果显示,莫沙必利在胃排空时间上优于空白对照,两组间差异有统计学意义($WMD = -19.03$ 95%CI: -22.51--15.54, $P < 0.00001$)(图1); (2)小肠通过时间: 6个RCT(包括370例患者)^[11-16]提供了对小肠通过时间影响的资料。各试验间无异质性($P = 0.75$),故采用固定效应模型进行Meta分析。结果显示,莫沙必利在小肠通过时间上优于空白对照,两组间差异有统计学意义($WMD = -29.51$, 95%CI: -42.60--16.43, $P < 0.00001$)(图2); (3)小肠检查完成率: 4个RCT(包括260例患

Review: 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价
Comparison: 01莫沙必利 vs 空白对照
Outcome: 02小肠通过时间

■应用要点

胶囊内镜检查前口服莫沙必利能缩短胃排空时间, 提高小肠检查完成率, 但上述结果解释应慎重, 有待进一步循证医学的证据。

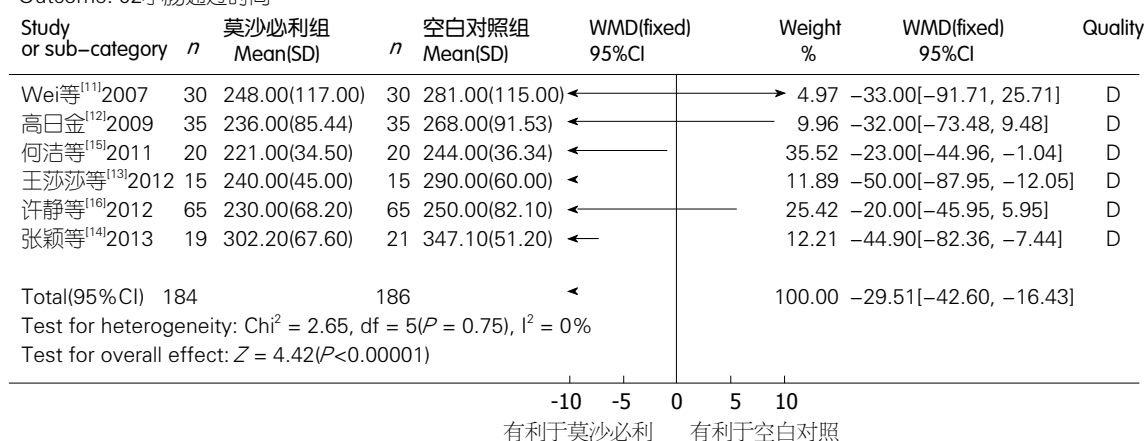


图2 莫沙必利 vs 空白对照对小肠通过时间影响的Meta分析。

Review: 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价
Comparison: 01莫沙必利 vs 空白对照
Outcome: 03小肠检查完成率

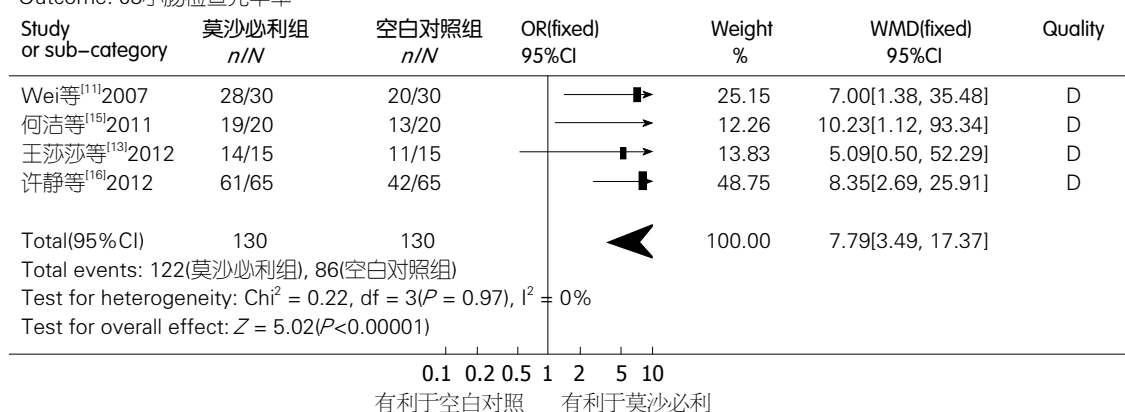


图3 莫沙必利 vs 空白对照对小肠检查完成率影响的Meta分析。

者^[11,14-16]提供了对小肠检查完成率影响的资料。各试验间无异质性($P = 0.97$), 故采用固定效应模型进行Meta分析。结果显示, 莫沙必利组小肠检查完成率为93.85%, 空白对照组为66.15%, 两组间差异有统计学意义($OR = 7.79$, 95%CI: 3.49-17.37, $P < 0.00001$)(图3); (4)胶囊内镜诊断率: 2个RCT(包括90例患者)^[11,13]提供了对胶囊内镜诊断率影响的资料。各试验间无异质性($P = 0.75$), 故采用固定效应模型进行Meta分析。结果显示, 莫沙必利组胶囊内镜诊断率为75.55%, 空白对照组为55.55%, 两组间差异无统计学意义($OR = 2.50$, 95%CI: 1.01-6.18, $P = 0.05$)(图4); (5)不良反应发生率: 纳入6个RCT^[11-16](包括370例患者)提供了不良反应发生率的资料。各试验均无严重不良反应发生。

2.2.2 莫沙必利联合聚乙二醇1.5-2.0 L与聚乙二醇1.5-2.0 L的比较: 1篇纳入130例患者单中心随机

对照试验^[17], 比较莫沙必利联合聚乙二醇1.5-2.0 L与聚乙二醇1.5-2.0 L在胶囊内镜肠道准备中的效果评价, 结果显示, 两组在小肠停留时间及胶囊内镜排除时间上分别为(265 min±77 min vs 276 min±71 min和26.2 h±7.1 h vs 27.3 h±8.1 h), 两组差异无统计学意义($P = 0.446$ 和 $P = 0.389$)。在小肠上段肠道气泡及肠液量分级评分上分别为(0.98±0.34 vs 1.42±0.32和1.25±0.18 vs 1.46±0.22), 两组差异有统计学意义($P = 0.01$ 和 $P = 0.031$); 在不良反应发生率上, 部分患者在大量饮水过程中出现恶心、呕吐等症状, 部分排出胶囊后仍有排稀烂便, 未予特殊处理24 h后均缓解。

3 讨论

本研究在全世界范围内共收集到7个(包括500例患者)已完成的莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的RCT, 其中6个为莫沙必利和空白对照比较, 1

■同行评价

本文有一定应用意义,可作为临床上的参考。

Review: 莫沙必利在胶囊内镜检查中应用的系统评价
Comparison: 01莫沙必利 vs 空白对照
Outcome: 04胶囊内镜诊断率

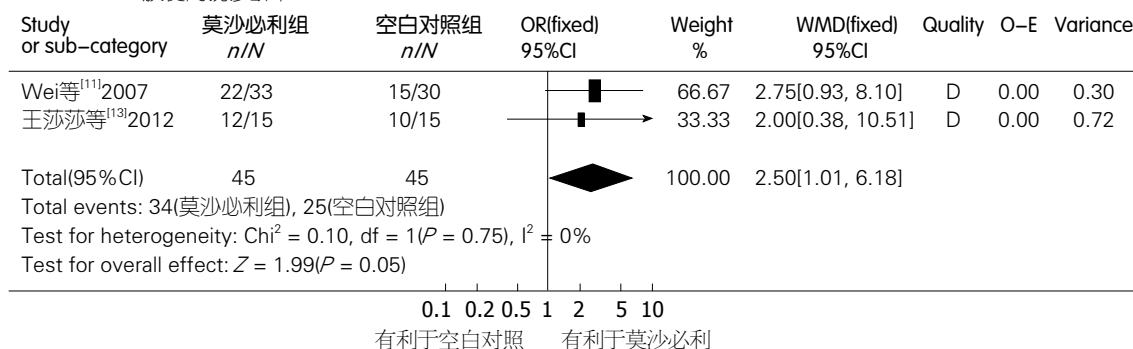


图4 莫沙必利 vs 空白对胶囊内镜诊断率影响的Meta分析。

个为莫沙必利联合聚乙二醇和聚乙二醇比较的资料。7个试验均采用了目前临床常用的纳入标准和排除标准,因而具有代表性。

莫沙必利是一种选择性5-HT₄受体激动剂,通过兴奋胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛的5-HT₄受体,促进乙酰胆碱的释放,从而增强胃肠道运动^[18]。在胶囊内镜检查中,未完成小肠检查者包括胶囊永久滞留、胶囊暂时滞留、胶囊通过缓慢3种情况,胶囊永久滞留及暂时滞留是由于肠道严重或次严重的狭窄导致,不能人工干预。而胶囊通过缓慢则往往由各种原因的胃肠动力不足引起^[19]。本系统评价纳入6个RCT的Meta分析结果显示,莫沙必利在胃排空时间和小肠通过时间上有优于空白对照。纳入研究中2篇试验^[11,12]报道了随机方法,但所有研究均未使用盲法及对分配方案进行隐藏,样本量最小的仅30例^[13],尽管纳入6篇试验均报告失访退出的情况,但未进行ITT分析,结果解释应慎重。纳入4个RCT的Meta分析结果显示,莫沙必利在小肠检查完成率上优于空白对照,纳入研究中1篇试验^[11]报道了随机方法,所有试验均未使用盲法及对分配方案进行隐藏。有待大样本严格设计随机对照试验的证据。纳入2个RCT的Meta分析结果显示,莫沙必利在胶囊内镜诊断率上不优于空白对照,纳入研究中1篇报道了随机方法^[11],2篇试验均未采用盲法及对分配方案进行隐藏,且样本量均较小,在安全性上,纳入研究均无莫沙必利严重不良反应的报道,说明安全性较好。1篇纳入130例患者的RCT结果显示^[17],莫沙必利联合聚乙二醇可提高上段小肠黏膜观察清晰度,提高胶囊内镜观察效果,且减少肠道准备中的不良反应,但研究方法学质量不高,仍需大样本,多中心高质量随机对照试验的

证实。总之,本系统评价纳入试验中存在方法学缺陷包括:(1)大多研究未描述随机方法,未采用盲法和对分配方案进行隐藏,存在实施偏倚和测量偏倚的高度可能性,也存在选择性偏倚的高度可能性;(2)大多研究样本含量小,没有多中心、大样本的研究,使产生偏倚和误差的机会增加;(3)在疗效判定指标上,对临床相关的主要指标(胶囊内镜图像质量分级等)的报道较少,无法判断整体有效性;且对疗效指标大多未采用意向性分析,存在偏倚可能。

总之,目前的证据显示,胶囊内镜检查前口服莫沙必利能缩短胃排空及小肠通过时间,提高小肠检查完成率。且安全性好,但考虑发表的临床研究方法学质量仍存在多种局限性,故应谨慎看待以上结果。今后有必要进一步开展大样本、高质量的临床随机对照试验,为临床应用提供更可靠的证据。

4 参考文献

- 1 Lee NM, Eisen GM. 10 years of capsule endoscopy: an update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 4: 503-512 [PMID: 20678022]
- 2 Rondonotti E, Herreras JM, Pennazio M, Caunedo A, Mascarenhas-Saraiva M, de Franchis R. Complications, limitations, and failures of capsule endoscopy: a review of 733 cases. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 712-716; quiz 752, 754 [PMID: 16246685]
- 3 de Franchis R, Avgerinos A, Barkin J, Cave D, Filoche B. ICCS consensus for bowel preparation and prokinetics. *Endoscopy* 2005; 37: 1040-1045 [PMID: 16189787]
- 4 Caddy GR, Moran L, Chong AK, Miller AM, Taylor AC, Desmond PV. The effect of erythromycin on video capsule endoscopy intestinal-transit time. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 262-266 [PMID: 16427932]
- 5 Dai N, Gubler C, Hengstler P, Meyenberger C, Bauerfeind P. Improved capsule endoscopy after bowel preparation. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 28-31 [PMID: 15672052]

- 6 Selby W. Complete small-bowel transit in patients undergoing capsule endoscopy: determining factors and improvement with metoclopramide. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 80-85 [PMID: 15672061]
- 7 Fireman Z, Kopelman Y, Fish L, Sternberg A, Scapa E, Mahaina E. Effect of oral purgatives on gastric and small bowel transit time in capsule endoscopy. *Isr Med Assoc J* 2004; 6: 521-523 [PMID: 15373307]
- 8 Fireman Z. What is the optimal bowel preparation for capsule endoscopy? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 418-419 [PMID: 18577976]
- 9 Viazis N, Sgouros S, Papaxoinis K, Vlachogiannakos J, Bergele C, Sklavos P, Panani A, Avgerinos A. Bowel preparation increases the diagnostic yield of capsule endoscopy: a prospective, randomized, controlled study. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 534-538 [PMID: 15472674]
- 10 Ida Y, Hosoe N, Imaeda H, Bessho R, Ichikawa R, Naganuma M, Kanai T, Hibi T, Ogata H. Effects of the oral administration of mosapride citrate on capsule endoscopy completion rate. *Gut Liver* 2012; 6: 339-343 [PMID: 22844562]
- 11 Wei W, Ge ZZ, Lu H, Gao YJ, Hu YB, Xiao SD. Effect of mosapride on gastrointestinal transit time and diagnostic yield of capsule endoscopy. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1605-1608 [PMID: 17683491]
- 12 高日金. 莫沙必利对胶囊内镜胃肠转运时间的影响. *基层医学论坛* 2009; 13: 128-130
- 13 王莎莎, 王永席, 翟红兵, 车军, 马锦屏. 莫沙比利分散片在OMOM胶囊内镜检查中的应用研究. *临床消化病杂志* 2012; 24: 333-337
- 14 张颖, 齐凤祥, 张志广. 莫沙必利在老年人胶囊内镜检查中的作用. *中华老年医学杂志* 2013; 32: 305-309
- 15 何洁, 杨芳, 李小华, 杨伟群, 林峰华. 莫沙比利对胶囊内镜胃肠道通过时间的影响. *中国实用医药* 2011; 6: 162-163
- 16 许静, 段志坚, 吴丽, 吴富. 莫沙比利在胶囊内镜检查中的作用分析. *临床医药实践* 2012; 21: 67-68
- 17 谢春生, 刘浏, 贾柳萍, 杨冬华. 莫沙必利联合聚乙二醇电解质散在胶囊内镜肠道准备中的效果评价. *实用医学杂志* 2011; 27: 2230-2231
- 18 Pennazio M, Santucci R, Rondonotti E, Abbiati C, Beccari G, Rossini FP, De Franchis R. Outcome of patients with obscure gastrointestinal bleeding after capsule endoscopy: report of 100 consecutive cases. *Gastroenterology* 2004; 126: 643-653 [PMID: 14988816]
- 19 Delvaux M. Capsule endoscopy in 2005: facts and perspectives. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 23-39 [PMID: 16473799]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.

超声内镜确诊胰岛细胞瘤2例

齐鑫, 刘敬军

■背景资料

胰岛细胞瘤是源自胰岛B细胞的一类临床少见肿瘤,并且在成人多见,15岁以下儿童发病少见,其发病率仅为0.5-5/100万。胰岛细胞瘤根据其有无分泌功能分为功能性和非功能性两大类。功能性胰岛细胞瘤分泌一种或多种激素,表现出与激素相关性的临床症状,如低血糖。临床上通过典型的Whipple三联征(有低血糖的症状和体征,血糖葡萄糖 <2.8 mmol/L,服糖后症状缓解),且排除其他原因导致的低血糖,如应用降糖药过量、垂体前叶功能减退等可作出初步诊断。

齐鑫, 刘敬军, 大连市中心医院消化内镜2科 辽宁省大连市 116000

作者贡献分布: 本文写作和查阅相关文献由齐鑫完成; 诊断思路及指导修改文章由刘敬军完成。

通讯作者: 刘敬军, 主任医师, 116000, 辽宁省大连市沙河口区西南路826号, 辽宁省大连市中心医院消化内镜2科。

shenyanglj@163.com

收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-09-01

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-11-18

Two cases of insulinoma diagnosed by endoscopic ultrasonography

Xin Qi, Jing-Jun Liu

Xin Qi, Jing-Jun Liu, Department of Digestive Endoscopy (Division II), Dalian Municipal Central Hospital, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Jing-Jun Liu, Chief Physician, Department of Digestive Endoscopy (Division II), Dalian Municipal Central Hospital, 826 Xinan Road, Shahekou District, Dalian 116000, Liaoning Province, China. shenyanglj@163.com

Received: 2013-06-13 Revised: 2013-09-01

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-11-18

Abstract

We report two cases of insulinoma that clinically manifested as paroxysmal vertigo and dizziness. Endoscopic ultrasonography (EUS) revealed an insulinoma located in the body and tail of the pancreas. Both patients received surgical treatment and pathology revealed insulinoma. EUS has an appreciated value not only in the diagnosis of insulinoma but also in intraoperative tumor localization.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Insulinoma; Endoscopic ultrasonography

Qi X, Liu JJ. Two cases of insulinoma diagnosed by endoscopic ultrasonography. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(32): 3608-3610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3608.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3608>

摘要

本文报道2例患者均以发作性眩晕、头昏

为临床表现,行超声内镜检查(endoscopic ultrasonography, EUS)考虑胰岛细胞瘤,术后病理符合。超声内镜对胰岛细胞瘤的诊断有一定价值,可作为术前病灶定位的一个手段。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰岛细胞瘤; 超声内镜

核心提示: 超声内镜胰岛细胞瘤的影像学特点是圆形或类圆形相对于胰腺实质呈均匀弱低回声区域,常伴有光滑的高回声边缘,一般来说胰腺内分泌肿瘤多有被膜,轮廓清晰,约半数相当于被膜的部分呈晕环,仅此一项即可推测是胰腺内分泌肿瘤。

齐鑫, 刘敬军. 超声内镜确诊胰岛细胞瘤2例. 世界华人消化杂志 2013; 21(32): 3608-3610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3608.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i32.3608>

0 引言

胰岛细胞瘤(insulinoma)是源自胰岛B细胞的一类临床少见肿瘤,常规影像学检查难以发现,病变定位更加困难,易被误诊误治,现将我院在超声内镜下发现胰岛细胞瘤2例报道如下。

1 病例报告

病例1, 患者, 老年女性, 72岁, 以“发作性晕厥3年, 反复发作性精神异常半年”为主诉, 就诊我院。患者3年前开始起病, 多表现为清晨(空腹)时, 无诱因出现晕厥, 持续时间约30 min, 醒后不能回忆发病过程。起病初期, 约1年出现1次, 未特殊注意, 半年前, 清晨(空腹)时, 出现精神异常, 表现为言语混乱, 意识障碍。既往无重大精神创伤史, 无外伤手术史, 体格检查未见明确异常。行脑电图、心电图监测、颅脑MRI检查, 未见明确异常, 行血糖检查示: 2.4 mmol/L。入当地医院治疗, 住院期间, 患者多次空腹状态下发作意识不清, 多次发作时血糖值均低于2.8 mmol/L, 给予10%葡萄糖静推后症状迅速缓解。腹部增强CT检查: 胰腺体部可见低密度, 大小约1 cm×1 cm肿

■同行评议者

杨建民, 教授, 浙江省人民医院消化内科

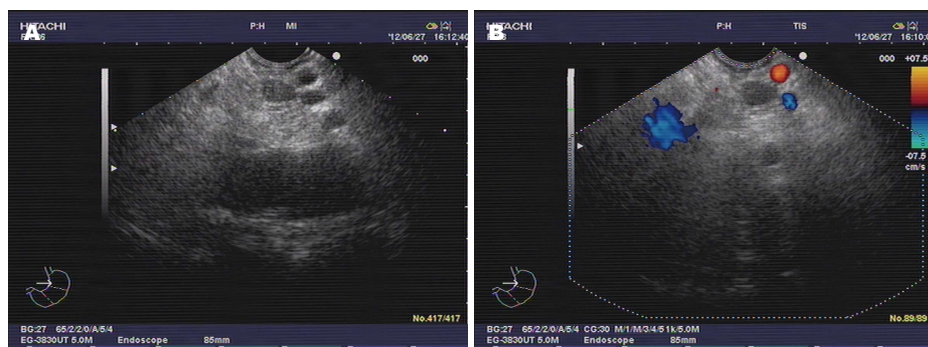


图 1 为超声内镜下胰岛细胞瘤。A: 胰腺体部见低回声肿物, 大小0.9 cm×1.3 cm, 回声较均, 边界清, 病变旁可见走行动静脉; B: 肿块内未见明显血流信号。

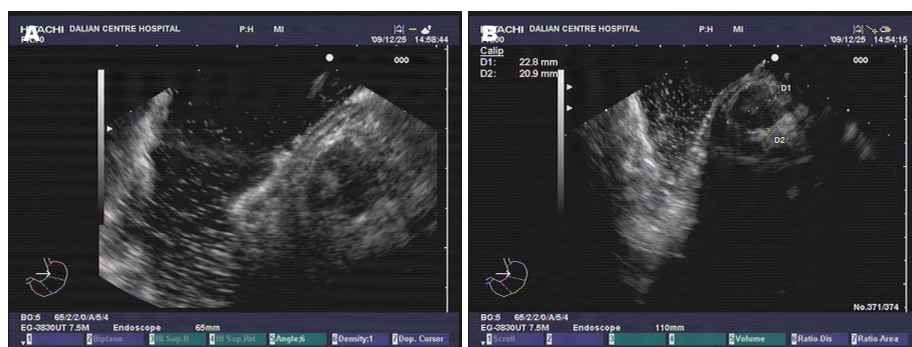


图 2 为超声内镜下胰岛细胞瘤。A: 胰头处低回声占位, 不规则, 边界欠清, 内部回声不均匀, 部分呈中等回声, 未见明显胰管扩张; B: 肿物大小23 mm×21 mm。

物, 考虑胰岛细胞瘤可能性大。于我院行超声内镜检查: 胰腺体部低回声占位, 考虑胰岛细胞瘤(图1)并行手术治疗, 术后病理: 符合胰岛细胞瘤。术后多次监测空腹血糖均为位于正常范围内。

病例2, 患者男性, 57岁, 以“发作性头晕、乏力、视物不清2年”为主诉入院。患者2年前饮酒或饭后出现头晕、乏力、幻视、行为怪异等表现(具体持续时间不详), 休息后可自行恢复正常, 病初1-2 mo出现1次, 6 mo前, 发作频率增加, 就诊我院, 监测发作期及空腹血糖, 波动于2.04-2.33 mmol/L, 行腹部增强CT检查: 可疑胰腺尾部占位病变。行超声内镜检查, 发现胰腺尾部大小约3.1 cm×3.3 cm占位, 考虑为胰岛细胞瘤(图2)。并于我院普外科行胰岛细胞瘤切除术。开腹前测血糖值: 2.4 mmol/L, 切除肿物后30 min血糖为4.2 mmol/L, 术后恢复顺利, 多次监测空腹血糖均在正常范围内。

2 讨论

Insulinoma是源自胰岛B细胞的一类临床少见肿瘤^[1], 并且在成人多见, 15岁以下儿童发病少见^[2], 国外曾有文献报道其发病率0.5-5/100万^[3-5], 该病的临床症状复杂多变, 给临床诊治带来困难,

而且较容易误诊, 常误诊为癫痫、脑血管意外等。

胰岛细胞瘤的定性诊断还是依赖典型的Whipple三联征和发作时IRI/G>0.3。以上两项指标除了在患者低血糖发作时获得外, 饥饿试验对症状不典型的患者具有重要价值, 如果72 h饥饿试验仍不能诱发上述症状, 可排除胰岛细胞瘤的诊断^[6]。本院收治的这两例患者, 临床发作表现均表现为发作性头晕, 临床表现不典型, 通过检查患者空腹血糖, 均表现为低血糖症。

胰岛细胞的定位诊断对以后的治疗起到至关重要的作用。然而, 多数胰岛细胞瘤体积<2 cm, 并且多位于胰腺实质内, 与周围胰腺组织密度相似, 因此术前定位较困难。定位技术包括胰腺超声、X线电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、动脉造影、超声内镜等。有文献报道^[7], 超声内镜是所有影像检查中敏感性最高的, 他对胰腺神经内分泌肿瘤的诊断敏感性达80%-90%, 并且超声内镜还可清晰显示直径<1 cm的胰腺肿瘤。本两例患者术前均采用超声内镜准确定位病灶大小及位置。大多数情况下, 胰岛细胞瘤的EUS的影像学特点是: 圆形或类

■研发前沿

近年来随着对比增强EUS技术的应用, 通过注射Levovist进行ceEUS不但大大提高了EUS对胰岛细胞瘤的显示能力, 还可以显示出小胰岛细胞瘤与胰管的关系, 对手术具有重要的指导意义。

■相关报道

最近有报道指出, 手术治疗期间及手术前夜皮下注射人工合成生长抑素50 μg, 以抑制胰岛素释放, 避免低血糖症状发作。术后继续应用生长抑素, 以防止急性胰腺炎及胰瘘的发生。术中术后应对血糖及胰岛素进行连续动态监测。为此术中不输含糖葡萄糖的液体。在肿瘤切除前、术后时测血糖、胰岛素进行对照, 肿瘤摘除后血糖持久不升高, 胰岛素不下降表明仍有肿瘤遗留。

■应用要点

对于临床表现为“Whipple三联征”的患者应高度怀疑该病,同时结合超声内镜检查等明确诊断,予以手术治疗,可降低误诊率。

圆形相对于胰腺实质呈均匀弱低回声区域,常伴有光滑的高回声边缘^[8],一般来说胰腺内分泌肿瘤多有被膜,轮廓清晰,约半数相当于被膜的部分呈晕环,仅此一项即可推测是胰腺内分泌肿瘤。本院收治的这两例患者,行超声内镜检查,影像学提示分别在胰腺体部、尾部发现占位性病变,并依据其影像特点,诊断为胰岛细胞瘤。

该病一旦确诊后,应尽早采取手术治疗,手术是胰岛细胞瘤治疗和治愈的唯一选择^[9]。Grygiel、Szmidt等对45例胰岛细胞瘤患者的手术治疗做了回顾性分析,所有患者术前都进行了超声内镜定位,术后病理均为胰岛细胞瘤,所有患者术前的临床症状均消失,恢复同常。本组两例患者确诊后均接受手术治疗,切除病灶。术后病理均提示:胰岛细胞瘤。术后随访两例患者,无明确术后并发症均康复出院。术后监测血糖,均在正常范围内。

本文结果表明:超声内镜对胰岛细胞瘤的诊断有一定价值,可作为术前病灶定位的一个手段。

■同行评价

胰岛细胞瘤临床罕见,易被误诊误治。本文两例均表现为发作性眩晕、头昏,作为个案报道有一定临床价值。

3 参考文献

- 1 王未飞,尹炜凡,杨欢.表现为发作性精神与意识障碍的胰岛素瘤一例.脑与神经疾病杂志 2011; 19:

393-394

- 2 刘晓丽.胰岛素瘤5例.医学理论与实践 2007; 20: 998
- 3 Bliss RD, Carter PB, Lennard TW. Insulinoma: a review of current management. *Surg Oncol* 1997; 6: 49-59 [PMID: 9364660]
- 4 Druce MR, Muthuppalaniappan VM, O'Leary B, Chew SL, Drake WM, Monson JP, Akker SA, Besser M, Sahdev A, Rockall A, Vyas S, Bhattacharya S, Matson M, Berney D, Reznick RH, Grossman AB. Diagnosis and localisation of insulinoma: the value of modern magnetic resonance imaging in conjunction with calcium stimulation catheterisation. *Eur J Endocrinol* 2010; 162: 971-978 [PMID: 20207727 DOI: 10.1530/EJE-10-0056.]
- 5 Service FJ, McMahon MM, O'Brien PC, Ballard DJ. Functioning insulinoma--incidence, recurrence, and long-term survival of patients: a 60-year study. *Mayo Clin Proc* 1991; 66: 711-719 [PMID: 1677058]
- 6 赵玉沛,丛林,张太平,廖泉,戴梦华,刘子文,蔡力行,朱预.胰岛素瘤404例诊治分析.中国实用外科杂志 2008; 28: 357-359
- 7 Varas Lorenzo MJ, Miquel Collell JM, Maluenda Colomer MD, Boix Valverde J, Armengol Miró JR. Preoperative detection of gastrointestinal neuroendocrine tumors using endoscopic ultrasonography. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 828-836 [PMID: 17198475]
- 8 Koito K, Namieno T, Nagakawa T, Morita K. Splenic artery prior to rupture in the pancreatic pseudocyst: detection by endoscopic color Doppler ultrasonography. *J Ultrasound Med* 1996; 15: 721-724 [PMID: 8887245]
- 9 赵玉沛,张太平.胰岛素瘤.胰腺病学.北京:人民卫生出版社,2007: 559-569

编辑 田滢 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max} , C_{max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念 and 设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

唐必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：

2012年1月





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 11 月 28 日 第 21 卷 第 33 期 (Volume 21 Number 33)



33 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员，由485位专家组成，分布在30个省市，自治区，特别行政区。其中，上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 11 月 28 日 第 21 卷 第 33 期 (总第437期)

述 评	3611 Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展 张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋
基础研究	3617 卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤 雷延昌, 罗盼, 李雯 3623 SDF-1 α /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠 刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟
临床研究	3631 肝脏神经内分泌肿瘤34例 陆中萃, 张秀辉 3638 华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系 乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青 3647 新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学 吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华 3654 血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性 刘维新, 张坤, 戴聪, 任益 3661 锯齿状病变患者组织中CDX2基因启动子中上游区域的甲基化 许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园
文献综述	3670 自身免疫性肝炎的研究进展 黄颖秋 3678 姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展 刘婕, 唐世孝 3683 十二指肠间质瘤的研究进展 李昱骥, 董明 3688 维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展 王科伟, 董明
研究快报	3695 二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制 张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东 3700 应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制 林艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青
临床经验	3706 接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患者中的表达及临床病理意义 姜齐宏, 陈艳, 王爱祥 3710 Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效 陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为 3715 乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治 荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧 3720 药物性肝损伤临床分析324例 张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红 3724 Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化(\geq F2)的Meta分析 罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰 3736 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值 马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏 3742 肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义 杨雅阁, 张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波 3747 超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系 付雪丹, 刘彦丽 3752 Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系 李昱骥, 隋远达, 孔凡民 3757 循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较 李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉

	3762 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果 夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣
附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3653 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3660 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3677 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3699 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3714 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3741 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3751 《世界华人消化杂志》正文要求 3756 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3766 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 吴江锋, 副教授, 443002, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学医学院形态学部
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-11-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域第52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

November 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 33

EDITORIAL	3611 Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation <i>Zhang K, Ai WB, Liu CB, Wu JF</i>
BASIC RESEARCH	3617 Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice <i>Lei YC, Luo P, Li W</i> 3623 SDF-1 α /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis <i>Liu XX, Fan H, Duan XY, Tang Q, Shou ZX, Zou DM, Zhang LJ, Cao D, Zou Z</i>
CLINICAL RESEARCH	3631 Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases <i>Lu ZC, Zhang XH</i> 3638 Relationship between morphological changes and survival status of <i>Clonorchis sinensis</i> eggs and gallstone formation <i>Qiao T, Luo XB, Ma RH, Zheng PM, Luo ZL, Yang LQ</i> 3647 Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang <i>Lv FJ, Liu JW, Lv HQ, Zhang D, Han YH, Pang GD, Jiang YH, Lu J, Shan JH</i> 3654 Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease <i>Liu WX, Zhang S, Dai C, Ren Y</i> 3661 CDX2 upstream promoter methylation status in serrated lesions <i>Xu CW, Wang LP, Ge C, Zhang YP, Fang Y</i>
REVIEW	3670 Advances in research of autoimmune hepatitis <i>Huang YQ</i> 3678 Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma <i>Liu J, Tang SX</i> 3683 Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors <i>Li YJ, Dong M</i> 3688 Vitamin D receptor and colorectal cancer <i>Wang KW, Dong M</i>
RAPID COMMUNICATION	3695 Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP <i>Zhang XN, Dai CP, Xia QZ, Han XH, Ji ND</i> 3700 Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice <i>Lin Y, Wang SL, Yue YY, Zheng CQ</i>
CLINICAL PRACTICE	3706 Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer <i>Jiang QH, Chen Y, Wang AX</i> 3710 Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma <i>Lu GQ, Li G, Ainiwaer•Julaiti, Li DS, Xiaheding•Yiliyaer, Zhang LW</i> 3715 Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment <i>Rong L, Li K, Zheng SY, Liu F, Liu HM, Hou H</i> 3720 Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases <i>Zhang P, Ke YM, Fan XC, Li YH</i> 3724 Evaluation of hepatic fibrosis stage (\geq F2) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A Meta-analysis <i>Luo ZH, Zou J, Mi L, Liu Y, Tong YL, Yu XF</i> 3736 ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis <i>Ma MY, Jiang GB, Wang X, Miao L, Ji GZ, Wang M</i> 3742 Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma <i>Yang YG, Zhang BY, Liu L, Bai YQ, Cao MB</i> 3747 Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation <i>Fu XD, Liu YL</i> 3752 Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma <i>Li YJ, Sui YD, Kong FM</i> 3757 Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum <i>Li N, Bo CW, Zou CP, Ma WH, Zheng Z, An YH</i>

	3762 Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer <i>Xia YX, Shang PJ, Liu XZ, Zhang XD, Xu X</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Jiang-Feng Wu, Professor, Medical College, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date November 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展

张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋

张凯, 艾文兵, 三峡大学第二临床医学院 湖北省宜昌市 443000

柳长柏, 三峡大学分子生物学研究所 湖北省宜昌市 443002

吴江锋, 三峡大学医学院 湖北省宜昌市 443002

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81170412, 81200307

作者贡献分布: 本文综述由张凯与艾文兵完成; 吴江锋与柳长柏审核。

通讯作者: 吴江锋, 教授, 硕士生导师, 443002, 湖北省宜昌市西陵区大学路8号, 三峡大学医学院. 313229177@qq.com

电话: 0717-6397328

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-09-15

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-11-28

Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation

Kai Zhang, Wen-Bing Ai, Chang-Bai Liu, Jiang-Feng Wu

Kai Zhang, Wen-Bing Ai, the Second College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Chang-Bai Liu, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China.

Jiang-Feng Wu, Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81170412 and 81200307

Correspondence to: Jiang-Feng Wu, Professor, Medical College, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China. 313229177@qq.com

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-09-15

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-11-28

Abstract

Multiple signaling pathways are involved in the pathogenesis of hepatic fibrosis, and the Notch signaling pathway plays an important role in promoting the activation of hepatic stellate cells (HSCs). This pathway participates in the activation of HSCs mainly by cooperating with transforming growth factor β (TGF- β)/BMP, nuclear factor-kappa B (NF- κ B), and Wnt signaling pathways directly or indirectly. This review aims to explore the relationship between the Notch signaling pathway and the activation of HSCs as well as the cooperative actions between TGF- β /BMP, NF- κ B, and Wnt and the Notch

signaling pathway in the process of the activation of HSCs.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Notch; Transforming growth factor- β /BMP; WNT; nuclear factor-kappa B; Hepatic stellate cells

Zhang K, Ai WB, Liu CB, Wu JF. Progress in understanding the relationship between Notch signaling pathway and hepatic stellate cell activation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3611-3616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3611>

摘要

肝纤维化的发生与多种信号通路密切相关, 有研究证实Notch信号通路在肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化过程起重要作用。Notch通路主要通过直接与间接与转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)/BMP、核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、WNT等信号通路的协同作用参与HSC的活化。本文主要就Notch信号通路与HSC活化的关系, 该信号通路在HSC的活化过程中与TGF- β /BMP、NF- κ B、WNT等信号通路的协同作用作一评述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Notch; 转化生长因子 β /BMP; WNT; 核因子- κ B; 肝星状细胞

核心提示: 本文不仅较全面的阐述了Notch与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化的关系及研究现状, 也进一步讨论了Notch与转化生长因子 β (transforming growth factor β)/BMP、核因子- κ B(nuclear factor-kappa B)、WNT等信号通路在HSC活化过程中的协调作用, 为寻找调节HSC活化的关键分子提供了一些新思路。

张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋. Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3611-3616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3611>

■背景资料

本文简要阐述了Notch与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化的关系及研究现状, 意在让读者对Notch与HSC活化的关系有更全面的了解, 为肝纤维化的分子靶向治疗提供可能方向。

■同行评议者

吴俊华, 副教授, 南京大学医学院; 刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■ 研发前沿

由于Notch通路在血液及免疫系统发育过程中的重要性,过去人们更多关注其对血液及免疫系统疾病的治疗。目前,Notch在治疗纤维化疾病方面的研究也已取得重大进展,进一步研究可能为纤维化疾病的治疗找到新的突破口。

0 引言

肝损伤-炎症-修复导致肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化,分泌大量的胶原蛋白,引起细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失调,是肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)形成的关键^[1,2]。静止的HSC位于Dessal间隙,他富含维生素A(vitamin A, VA)和甘油三酯等成份形成的脂滴^[3-5]。静止期的HSC经活化、转分化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MF)后,发生了多种变化,主要包括致纤维化基因的表达、具有收缩性和趋化作用、细胞增殖、脂滴丢失、白细胞因子的释放等^[6]。以上变化与HSC的多个信号通路有关,研究证实Notch通路的失活可抑制HSC的活化^[7-9],但具体机制并不清楚。因此,通过对Notch通路的深入研究,可能寻找到与HSC活化的关键分子,并以此作为治疗靶点,阻止甚至逆转HSC活化^[10]。本文就Notch信号通路在HSC中的研究现状及潜在的治疗意义作一综述。

1 Notch结构、分布及功能

Notch信号通路由Notch受体、Notch配体(DSL蛋白)、CSL(CBF-1, Suppressor of hairless, Lag的合称)DNA结合蛋白、其他的效应物和Notch的调节分子等组成。哺乳动物细胞中有4种Notch受体(Notch1-4)和5种Notch配体(Delta-like 1, 3, 4, Jagged1和Jagged2)。Notch受体为I型跨膜蛋白,当它与相邻细胞膜上的Notch配体结合后,激活Notch信号通路,招募2种蛋白水解酶。一种为金属蛋白酶(a disintegrin and metalloprotease, ADAM),另一种是衰老素(presenillin)介导的 γ 型分泌酶(γ -secretase)。ADAM作用于Notch受体的跨膜外区域, γ 型分泌酶作用于胞内区域,两者共同将Notch受体水解为胞外区、跨膜区及胞内结构域NICD(Notch intracellular domain)^[11,12]。

NICD是Notch受体的主要功能结构区,由2个核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)、1个RAM区(主要与CSL蛋白结合)、6个ANK(ankyrin,主要负责与核内相关蛋白结合形成转录复合物)重复序列及维持蛋白稳定的PEST(proline-glutamate-serine-threonine-rich domain)序列组成^[13,14]。NICD可向细胞核内聚集并与核内的RBP-J κ [binding protein-Jkappa,也被称作CSL或CBF1/Su(H)/Lag-1]核蛋白家族及p300、Mam1等蛋白形成转录复合物。当RBP-J κ 与NICD结合后,RBP-J κ 由转录抑制因子变为转录激活因子(transcriptional activator),从而使

Notch信号通路的直接靶基因Hes(hairy-enhancer of split)与Hey(hairy/enhancer of split-related with YRPW motif-like)及间接靶基因*cmyc*、*jag1*、*CD25*等表达^[15]。

Notch作为一个进化高度保守的信号通路,广泛存在于各种哺乳动物细胞中并精密的调节着细胞、组织、器官的分化和发育。尤其是在血液与免疫系统的进化和发育方面起着至关重要的作用,如Notch在胚胎形成时期能促进造血干细胞的形成,并维系造血干细胞在骨髓中的微环境^[16];同样,Notch对维持T细胞的分化与成熟至关重要,骨髓来源的前体T细胞需要高水平的Notch信号诱导其定植于胸腺并分化成熟^[17]。因此,Notch信号通路长期被用于免疫及血液系统疾病的研究。随着分子生物学的发展,Notch通路越来越多地被用于其他疾病的研究。如在人的肺、肾、肝脏、隔膜等纤维化疾病的研究中,发现Notch能与生长转化因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)作用促进或降解EMC,选择性的介导纤维化发生^[18,19]。

2 Notch与HSC活化

慢性肝损伤分泌的大量炎症因子所导致的HSC活化是肝纤维化形成的关键。在原代细胞水平,通过对正常大鼠肝脏中刚分离出的HSC与培养不同天数并高度活化的HSC进行对比,发现Notch受体和配体的表达存在显著差异^[20]。在静止期HSC中并没有Notch配体Jag1的表达,但在肝实质细胞、枯否细胞及高度活化的HSC中Jag1有表达。表明静止期的HSC需要肝脏的其他细胞提供Notch配体,拟维持Notch信号的活化。对于HSC中Notch受体及其下游靶基因的分布情况,研究发现在静止期HSC中,Notch受体Notch1、Notch2、Notch4及其靶基因*Hes1*、*Hey1*都有大量的表达^[21,22],但伴随着HSC的活化,以上基因的表达都有逐渐降低的趋势,其中,Notch1的变化最明显,在HSC的活化过程中,干细胞标记分子CD133、OCT4的表达也逐渐下降^[20,22],以上Notch相关分子与干细胞标记分子之间有何关联,值得进一步探讨。随着HSC的活化,Notch3的表达量却显著增高。目前已证实,Notch3与HSC的活化有一定关联^[23,24]。当Notch3的胞内功能结构域(NICD3)在HSC-T6细胞系中高表达时,该细胞的纤维化标志分子 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、I型胶原蛋白(collagen I)等都显著增加;但是,当

Notch3被小干扰RNA(siRNA)沉默后, 这两种蛋白的表达并无显著增高. 同时, 动物实验证实, 肝纤维化组织中Notch3、hes1、jagged1、 α -SMA、Collagen I的表达显著增高^[9].

虽然已有实验证实, 抑制Notch3的表达能有效抑制HSC的活化. 但Notch3作为Notch通路中的上游分子, 其下游的靶点过多, 干预Notch3的表达后, 会表现为多效性的特点, 因此, 单独依靠抑制Notch3的表达来抑制HSC活化, 并用于临床肝纤维化治疗并不现实. 若进一步弄清Notch3与HSC活化之间的具体分子机制, 找到Notch3下游与HSC活化更密切、更特异性的分子, 可以为肝纤维化的治疗开辟新途径. 而对于Notch信号通路的另外3种受体Notch1、Notch2、Notch4与HSC的活化关系并没有相关文献报道, 对肝纤维化治疗感兴趣的国内外学者仍值得继续探究.

3 Notch与多个信号通路在HSC活化过程中的作用关系

3.1 Notch与TGF- β /BMP信号通路的关系 Notch与TGF- β 信号通路具有协同作用. 研究表明, TGF- β 的下游分子Smad3既可结合该信号通路的靶基因启动子上的Smad结合元件(Smad binding elements, SBEs), 又可结合Notch信号通路的下游分子CSL. 一方面, TGF- β 具有促进Notch信号的作用: TGF- β 通过活化Smad2/3蛋白, 使其与Notch信号的下游分子NICD直接作用, 并结合到*Hes1*基因的启动子上, 上调*Hes1*基因的表达^[19,25,26]; 另一方面, Notch信号通路也可强化TGF- β 的作用: Notch信号通路可以提高Smad2/3的磷酸化水平^[27], 增加Smad3蛋白的表达量, 延长Smad3蛋白的半衰期, 上调TGF- β /Smad3靶基因的表达. 此外, 这两条信号通路通过协同作用, 可以上调 α -SMA的表达, 深入研究发现, Notch1/CSL可以直接活化 α -SMA的启动子^[28], 当阻断Notch信号通路时, TGF- β 所诱导的 α -SMA的表达上调受到抑制^[29].

同时, Notch与BMP信号通路也有协同作用. 当BMP信号通路活化后, Notch信号通路靶基因*Hes*的表达显著增高^[30]. 进一步研究Notch与BMP之间的内在关系发现, 在小鼠的神经上皮细胞中, BMP2激活的Smad1可与NICD结合形成复合体, 并在p300分子的协助下结合到*Hes*基因的启动子上, 进而上调*Hes5*、*Herp1*基因的表达^[31]. 在内皮细胞中也发现, BMP可调节Notch信号通

路的另一靶基因*Herp2*^[32].

在HSC中, TGF- β 与BMP的功能不同, TGF- β 促进HSC活化, 而BMP抑制了该过程. 由上可知, Notch与TGF- β 及BMP信号通路之间均通过“串话”起到协调效应. 那么, 在HSC的活化过程中, 是以Notch与TGF- β 信号通路的协调作用为主, 还是以Notch与BMP信号通路的协调作用为主, 或者Notch信号通路能否有效地协调这两种相互拮抗的信号通路, 值得进一步探讨.

3.2 Notch与NF- κ B信号通路的关系 NF- κ B信号通路与许多病理过程有关联, 如慢性炎症、持续感染、癌症等^[33,34]. 同样, NF- κ B所介导的炎症介质释放也是导致HSC活化的关键. 在活化的HSC中, 许多致炎症因子及致纤维化因子如肿瘤坏死因子 α 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)及ICAM1都受细胞内NF- κ B基础水平的调控^[35,36]. 同时, NF- κ B也保护性的调节细胞存活并抵抗细胞因子诱导的HSC凋亡^[37,38]. 因此, 调节HSC中NF- κ B的基础水平可调控HSC的活化.

在正常细胞中, 构成型NF- κ B蛋白表达恒定, 在胞质内, 大部分NF- κ B前体分子会与NF- κ B抑制蛋白I κ B(NF- κ B-inhibitory protein)形成复合物, 遏制NF- κ B蛋白进入细胞核发挥转录因子的作用; 当细胞受到各种炎症因子刺激后, 产生I κ B激酶(I κ B kinase, IKK), 该激酶使I κ B的稳定性降低, 进而降解I κ B, 活化NF- κ B信号通路^[39,40]. 由此可见, 增加胞质内I κ B蛋白的表达是遏制NF- κ B通路活化的有效手段.

在HSC中, Notch1的活化能增加胞质内I κ B蛋白的基础表达, 抑制NF- κ B通路活化^[41]. 细胞内I κ B蛋白的表达是受核内多种转录复合物调控的, 其中转录抑制因子(C-promoter binding protein-1, CBF1)是*I κ B*基因表达的关键调节因子. 当CBF1与SMRT-NcoR-HDAC1或CIR-HDAC2-SAP30等结合后会形成转录抑制复合体, 与*I κ B*基因启动子结合后抑制*I κ B*基因的表达, 活化NF- κ B通路^[42]. 而当细胞内高表达Notch1后, 大量的Notch1胞内结构域NICD入核, 招募CBP/P300等蛋白并与转录抑制复合体竞争性结合CBF1, 使转录抑制复合物变为转录激活子从而活化*I κ B*基因的表达^[43,44]. 可见, 在HSC中高表达的Notch1能增加胞质内I κ B蛋白的表达, 抑制NF- κ B通路的活化.

■ 相关报道

Notch能调节HSC的活化虽已有相关文献报道, 特别是Notch3的失活能抑制HSC活化有望用于治疗肝纤维化. 但调节HSC活化的关键分子并不清楚, 有待国内外学者进一步探究.

■创新盘点

目前人们更多的关注于TGF- β 信号在HSC活化中的作用,而本文全面总结了Notch信号与HSC活化的关系及研究现状,为肝纤维化的研究提供了一些新思路。

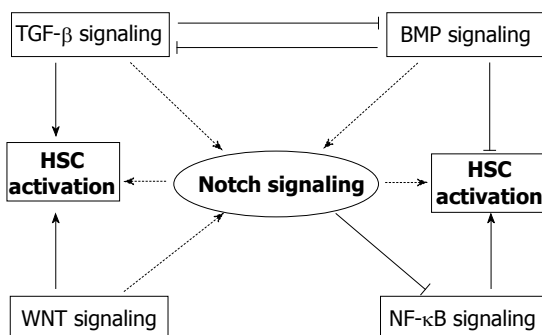


图1 Notch及转化生长因子- β /BMP、核因子- κ B、WNT信号通路与肝星状细胞活化的关系。TGF- β : 转化生长因子- β ; NF- κ B: 核因子- κ B; HSC: 肝星状细胞。

3.3 Notch与WNT信号通路的关系 研究证实WNT信号通路促进HSC活化。通过对比WNT受配体及其下游的分子在静止期和活化期原代HSC中的表达,发现WNT信号在活化的HSC中显著增强^[45,46]。在HSC-T6细胞系中进一步证实,当WNT信号通路活化后,细胞表达ECM的水平显著增加;当用内源性阻断剂DDK1阻断WNT信号通路后,ECM的表达无变化,该结果表明,增强的WNT信号确能促进HSC活化^[47,48]。在经典的WNT信号通路中,WNT通路的上游信号分子Necdin与Wnt10b的启动子结合,激活Wnt信号通路,通过抑制过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ),进而影响VA的代谢,促进HSC活化,这可能是WNT信号通路促进HSC活化的一种机制^[49-51]。

研究发现,当HSC中的WNT信号增强时,Notch1的表达会显著增加;而当WNT信号被阻断时,Notch1的表达显著降低^[7]。表明WNT信号在HSC中有调节Notch1表达的功能。在结肠癌(HCT116)细胞系中发现,经典的WNT信号活化后,下游的 β -catenin蛋白表达增高,该蛋白能与Notch2、Notch3、Notch4启动子上的LEF-1/TCF位点结合,进而使他们的表达增高,其中Notch2有显著增高趋势^[52-54]。因此,在HSC中可能存在WNT调节Notch相关受体表达的机制,但要阐明此种机制需进一步研究(图1)。

4 结论

Notch信号可与多种信号通路协同调节HSC的活化,但是,由于Notch信号通路具有多效性,继续寻找与HSC活化更密切、更特异性的分子,并以此为靶点进行干预性靶向治疗,可能成为逆转

HSC活化的有效手段之一。就研究现状而言,只是初步发现Notch信号通路可与多种信号通路共同调节HSC的活化,具体是哪些分子在HSC的活化中起关键性作用并不明确。因此,要想进一步明确Notch信号通路中各个分子在HSC活化中的作用,还需国内外学者共同努力,本文主要阐述了Notch信号通路在HSC活化过程中的研究现状及其与TGF- β /BMP、NF- κ B、WNT等信号通路在HSC活化过程中的可能的内在联系,期望为肝纤维化的研究提供一些思路及为临床治疗肝纤维化提供一条新途径。

5 参考文献

- Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci* 2010; 123: 4195-4200 [PMID: 21123617 DOI: 10.1242/jcs.023820]
- 高润平, 齐晓艳. 肝纤维化的发生机制与治疗进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2263-2269
- Yu J, Zhang S, Chu ES, Go MY, Lau RH, Zhao J, Wu CW, Tong L, Zhao J, Poon TC, Sung JJ. Peroxisome proliferator-activated receptors gamma reverses hepatic nutritional fibrosis in mice and suppresses activation of hepatic stellate cells in vitro. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 948-957 [PMID: 20156580 DOI: 10.1016/j.biocel.2010.02.006]
- Ramani K, Tomasi ML. Transcriptional regulation of methionine adenosyltransferase 2A by peroxisome proliferator-activated receptors in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2012; 55: 1942-1953 [PMID: 22271545 DOI: 10.1002/hep.25594]
- D'Ambrosio DN, Walewski JL, Clugston RD, Berk PD, Rippe RA, Blaner WS. Distinct populations of hepatic stellate cells in the mouse liver have different capacities for retinoid and lipid storage. *PLoS One* 2011; 6: e24993 [PMID: 21949825 DOI: 10.1371/journal.pone.0024993]
- Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J, Miething C, Yee H, Zender L, Lowe SW. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* 2008; 134: 657-667 [PMID: 18724938 DOI: 10.1016/j.cell.2008.06.049]
- Chen YX, Weng ZH, Zhang SL. Notch3 regulates the activation of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1397-1403 [PMID: 22493555 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1397]
- Chen YX, Weng ZH, Qi D, Zhang SL. [Effect of Notch signaling on the activation of hepatic stellate cells]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2012; 20: 677-682 [PMID: 23207232 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418]
- Chen Y, Zheng S, Qi D, Zheng S, Guo J, Zhang S, Weng Z. Inhibition of Notch signaling by a γ -secretase inhibitor attenuates hepatic fibrosis in rats. *PLoS One* 2012; 7: e46512 [PMID: 23056328 DOI: 10.1371/journal.pone.0046512]
- Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185]
- Erler F. [Osteosyntheses in forearm fractures (1972)]. *Beitr Orthop Traumatol* 1976; 23: 132-134 [PMID: 962803]

- 12 Nemir M, Pedrazzini T. Functional role of Notch signaling in the developing and postnatal heart. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45: 495-504 [PMID: 18410944 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.02.273]
- 13 Yashiro-Ohtani Y, Ohtani T, Pear WS. Notch regulation of early thymocyte development. *Semin Immunol* 2010; 22: 261-269 [PMID: 20630772 DOI: 10.1016/j.smim.2010.04.015]
- 14 Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284: 770-776 [PMID: 10221902]
- 15 Iso T, Kedes L, Hamamori Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway. *J Cell Physiol* 2003; 194: 237-255 [PMID: 12548545 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.02.273]
- 16 Dzierzak E, Speck NA. Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 129-136 [PMID: 18204427 DOI: 10.1038/ni1560]
- 17 Tanigaki K, Han H, Yamamoto N, Tashiro K, Ikegawa M, Kuroda K, Suzuki A, Nakano T, Honjo T. Notch-RBP-J signaling is involved in cell fate determination of marginal zone B cells. *Nat Immunol* 2002; 3: 443-450 [PMID: 11967543]
- 18 Bielez B, Sirin Y, Si H, Niranjan T, Gruenwald A, Ahn S, Kato H, Pullman J, Gessler M, Haase VH, Susztak K. Epithelial Notch signaling regulates interstitial fibrosis development in the kidneys of mice and humans. *J Clin Invest* 2010; 120: 4040-4054 [PMID: 20978353 DOI: 10.1172/JCI43025]
- 19 Nyhan KC, Faherty N, Murray G, Cooley LB, Godson C, Crean JK, Brazil DP. Jagged/Notch signaling is required for a subset of TGF β 1 responses in human kidney epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 1386-1395 [PMID: 20833210 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.001]
- 20 Sawitza I, Kordes C, Reister S, Häussinger D. The niche of stellate cells within rat liver. *Hepatology* 2009; 50: 1617-1624 [PMID: 19725107 DOI: 10.1002/hep.23184]
- 21 Ono Y, Sensui H, Okutsu S, Nagatomi R. Notch2 negatively regulates myofibroblastic differentiation of myoblasts. *J Cell Physiol* 2007; 210: 358-369 [PMID: 17044085]
- 22 Reister S, Kordes C, Sawitza I, Häussinger D. The epigenetic regulation of stem cell factors in hepatic stellate cells. *Stem Cells Dev* 2011; 20: 1687-1699 [PMID: 21219128 DOI: 10.1089/scd.2010.0418]
- 23 于秀文, 曾林祥. Notch信号通路与肺纤维化. *生命的化学* 2012; 32: 0155-0158
- 24 Guo LY, Li YM, Qiao L, Liu T, Du YY, Zhang JQ, He WT, Zhao YX, He DQ. Notch2 regulates matrix metalloproteinase 9 via PI3K/AKT signaling in human gastric carcinoma cell MKN-45. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7262-7270 [PMID: 23326131 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7262]
- 25 Blokzijl A, Dahlqvist C, Reissmann E, Falk A, Moliner A, Lendahl U, Ibáñez CF. Cross-talk between the Notch and TGF-beta signaling pathways mediated by interaction of the Notch intracellular domain with Smad3. *J Cell Biol* 2003; 163: 723-728 [PMID: 14638857]
- 26 Kurpinski K, Lam H, Chu J, Wang A, Kim A, Tsay E, Agrawal S, Schaffer DV, Li S. Transforming growth factor-beta and notch signaling mediate stem cell differentiation into smooth muscle cells. *Stem Cells* 2010; 28: 734-742 [PMID: 20146266 DOI: 10.1002/stem.319]
- 27 Tang Y, Urs S, Boucher J, Bernaiche T, Venkatesh D, Spicer DB, Vary CP, Liaw L. Notch and transforming growth factor-beta (TGFbeta) signaling pathways cooperatively regulate vascular smooth muscle cell differentiation. *J Biol Chem* 2010; 285: 17556-17563 [PMID: 20368328 DOI: 10.1074/jbc.M109.076414]
- 28 Fu Y, Chang A, Chang L, Niessen K, Eapen S, Setiadi A, Karsan A. Differential regulation of transforming growth factor beta signaling pathways by Notch in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 19452-19462 [PMID: 19473993 DOI: 10.1074/jbc.M109.011833]
- 29 Zavadil J, Cermak L, Soto-Nieves N, Böttinger EP. Integration of TGF-beta/Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial-to-mesenchymal transition. *EMBO J* 2004; 23: 1155-1165 [PMID: 14976548]
- 30 Itoh F, Itoh S, Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Iso T, Dotto GP, Hamamori Y, Kedes L, Kato M, ten Dijke P. Synergy and antagonism between Notch and BMP receptor signaling pathways in endothelial cells. *EMBO J* 2004; 23: 541-551 [PMID: 14739937]
- 31 Beets K, Huylebroeck D, Moya IM, Umans L, Zwijsen A. Robustness in angiogenesis: notch and BMP shaping waves. *Trends Genet* 2013; 29: 140-149 [PMID: 23279848 DOI: 10.1016/j.tig.2012.11.008]
- 32 Moya IM, Umans L, Maas E, Pereira PN, Beets K, Francis A, Sents W, Robertson EJ, Mummery CL, Huylebroeck D, Zwijsen A. Stalk cell phenotype depends on integration of Notch and Smad1/5 signaling cascades. *Dev Cell* 2012; 22: 501-514 [PMID: 22364862 DOI: 10.1016/j.devcel.2012.01.007]
- 33 田莉, 王献华, 马小兵, 赵静. TNF- α 介导的NF- κ B信号通路在肺纤维化中的作用. *现代预防医学* 2011; 38: 361-363
- 34 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597 [PMID: 17661407]
- 35 Faouzi S, Burckhardt BE, Hanson JC, Campe CB, Schrum LW, Rippe RA, Maher JJ. Anti-Fas induces hepatic chemokines and promotes inflammation by an NF-kappa B-independent, caspase-3-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001; 276: 49077-49082 [PMID: 11602613]
- 36 Mann DA, Smart DE. Transcriptional regulation of hepatic stellate cell activation. *Gut* 2002; 50: 891-896 [PMID: 12010897]
- 37 Lang A, Schoonhoven R, Tuvia S, Brenner DA, Rippe RA. Nuclear factor kappaB in proliferation, activation, and apoptosis in rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2000; 33: 49-58 [PMID: 10905586]
- 38 Oakley F, Meso M, Iredale JP, Green K, Marek CJ, Zhou X, May MJ, Millward-Sadler H, Wright MC, Mann DA. Inhibition of inhibitor of kappaB kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from rat liver fibrosis. *Gastroenterology* 2005; 128: 108-120 [PMID: 15633128]
- 39 Chen Y, Decker KF, Zheng D, Matkovich SJ, Jia L, Dorn GW. A nucleus-targeted alternately spliced Nix/Bnip3L protein isoform modifies nuclear factor κ B (NF κ B)-mediated cardiac transcription. *J Biol Chem* 2013; 288: 15455-15465 [PMID: 23603904 DOI: 10.1074/jbc.M113.452342]
- 40 Basak S, Kim H, Kearns JD, Tergaonkar V, O'Dea E, Werner SL, Benedict CA, Ware CF, Ghosh G,

应用要点

由于HSC的活化是受多因素共同调节的, 本文较全面的阐述了Notch与HSC活化的关系, 有助于肝纤维化研究者更好的分析实验数据、解释实验现象及把握实验方向。

■同行评价

本文呈现的内容以及作者的某些观点对于相关领域的研究者具有一定指导意义。

- Verma IM, Hoffmann A. A fourth IkappaB protein within the NF-kappaB signaling module. *Cell* 2007; 128: 369-381 [PMID: 17254973]
- 41 Oakley F, Mann J, Ruddell RG, Pickford J, Weinmaster G, Mann DA. Basal expression of IkappaBalpha is controlled by the mammalian transcriptional repressor RBP-J (CBF1) and its activator Notch1. *J Biol Chem* 2003; 278: 24359-24370 [PMID: 12700242]
- 42 Ang HL, Tergaonkar V. Notch and NFkappaB signaling pathways: Do they collaborate in normal vertebrate brain development and function? *Bioessays* 2007; 29: 1039-1047 [PMID: 17876798]
- 43 Espinosa L, Inglés-Esteve J, Robert-Moreno A, Bigas A. IkappaBalpha and p65 regulate the cytoplasmic shuttling of nuclear corepressors: cross-talk between Notch and NFkappaB pathways. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 491-502 [PMID: 12589049]
- 44 Nieto N. Ethanol and fish oil induce NFkappaB transactivation of the collagen alpha2(I) promoter through lipid peroxidation-driven activation of the PKC-PI3K-Akt pathway. *Hepatology* 2007; 45: 1433-1445 [PMID: 17538965]
- 45 Rashid ST, Humphries JD, Byron A, Dhar A, Askari JA, Selley JN, Knight D, Goldin RD, Thursz M, Humphries MJ. Proteomic analysis of extracellular matrix from the hepatic stellate cell line LX-2 identifies CYR61 and Wnt-5a as novel constituents of fibrotic liver. *J Proteome Res* 2012; 11: 4052-4064 [PMID: 22694338 DOI: 10.1021/pr3000927]
- 46 万赞燕, 胡国信. Wnt信号转导通路与肝纤维化关系的研究现状. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1761-1766
- 47 Shafiei MS, Shetty S, Scherer PE, Rockey DC. Adiponectin regulation of stellate cell activation via PPARgamma-dependent and -independent mechanisms. *Am J Pathol* 2011; 178: 2690-2699 [PMID: 21641391 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.02.035]
- 48 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602]
- 49 Mann J, Chu DC, Maxwell A, Oakley F, Zhu NL, Tsukamoto H, Mann DA. MeCP2 controls an epigenetic pathway that promotes myofibroblast transdifferentiation and fibrosis. *Gastroenterology* 2010; 138: 705-714, 714. e1-e4 [PMID: 19843474 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.002]
- 50 Okamura M, Kudo H, Wakabayashi K, Tanaka T, Nonaka A, Uchida A, Tsutsumi S, Sakakibara I, Naito M, Osborne TF, Hamakubo T, Ito S, Aburatani H, Yanagisawa M, Kodama T, Sakai J. COUP-TFII acts downstream of Wnt/beta-catenin signal to silence PPARgamma gene expression and repress adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5819-5824 [PMID: 19307559 DOI: 10.1073/pnas.0901676106]
- 51 Mödder UI, Oursler MJ, Khosla S, Monroe DG. Wnt10b activates the Wnt, notch, and NFkB pathways in U2OS osteosarcoma cells. *J Cell Biochem* 2011; 112: 1392-1402 [PMID: 21321991 DOI: 10.1002/jcb.23048]
- 52 Kim HA, Koo BK, Cho JH, Kim YY, Seong J, Chang HJ, Oh YM, Stange DE, Park JG, Hwang D, Kong YY. Notch1 counteracts WNT/beta-catenin signaling through chromatin modification in colorectal cancer. *J Clin Invest* 2012; 122: 3248-3259 [PMID: 22863622 DOI: 10.1172/JCI61216]
- 53 Horvay K, Abud HE. Regulation of intestinal stem cells by Wnt and Notch signalling. *Adv Exp Med Biol* 2013; 786: 175-186 [PMID: 23696357 DOI: 10.1007/978-94-007-6621-1_10]
- 54 Li A, Chan B, Felix JC, Xing Y, Li M, Brody SL, Borok Z, Li C, Minoo P. Tissue-dependent consequences of Apc inactivation on proliferation and differentiation of ciliated cell progenitors via Wnt and notch signaling. *PLoS One* 2013; 8: e62215 [PMID: 23646120 DOI: 10.1371/journal.pone.0062215]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤

雷延昌, 罗盼, 李雯

雷延昌, 罗盼, 李雯, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006

雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎肝衰竭的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81160065

作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由罗盼与李雯实施; 论文写作由雷延昌完成.

通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院. ycleihust@sina.com
电话: 0791-88499615

收稿日期: 2013-10-30 修回日期: 2013-11-17

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-11-28

Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice

Yan-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li

Yan-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160065

Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. ycleihust@sina.com

Received: 2013-10-30 Revised: 2013-11-17

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To explore the effects of carbamazepine (CBZ) on hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury in mice.

METHODS: Hepatic ischemia in male Balb/c mice was induced by occluding the portal triad for 1 h, and reperfusion was initiated by removing a microvascular clamp. Mice were randomly assigned to three groups ($n = 6$ for each group): I/R group as control, CBZ treatment group, and CBZ plus chloroquine (CQ) group. Serum ALT/AST levels at different time points were measured using biochemical methods. Hepatic morphological changes at 6 h after I/R were assessed by HE staining, and hepatocyte high mobility group box 1 (HMGB1) cytoplasmic translocation was detected by immunohistochemistry. Expression of Caspase3, Atg7, Beclin-1 and light chain 3 II (LC3 II) in liver tissue was analyzed by Western blot.

RESULTS: CBZ blocked the depletion of Atg7 and Beclin-1 and LC3II expression after reperfusion. CBZ treatment decreased ALT/AST levels significantly 2, 6 and 12 h after I/R compared with the I/R group (all $P < 0.01$). Expression of Caspase3 in liver tissue and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation at 6 h after I/R were also decreased significantly in the CBZ group (both $P < 0.01$). CQ antagonized the effect of CBZ in decreasing ALT/AST levels, Caspase3 expression and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation.

CONCLUSION: CBZ protects the liver against I/R injury in mice.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Word: Carbamazepine; Ischemia/reperfusion; Autophagy; High mobility group protein cytoplasmic translocation

Lei YC, Luo P, Li W. Carbamazepine protects the liver against ischemia/reperfusion injury in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3617-3622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3617>

摘要

目的: 了解卡马西平对肝脏缺血再灌注的保护作用.

方法: 动脉夹阻断肝脏血流1 h释放形成再灌注建立小鼠肝脏缺血再灌注模型. 6-8周龄♂ Balb/c随机分为缺血再灌注组(对照组)、卡马西平组、卡马西平+氯喹组, 每组6只. 生化检测各组缺血再灌注不同时间点血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)水平. HE染色观察肝脏形态学变化, 免疫组织化学分析肝脏高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)表达, 免疫印迹检测Caspase3、Atg7、Beclin-1和微管相关蛋白1轻链3 II (light chain 3 II, LC3 II)表达.

■背景资料

自噬是细胞依赖溶酶体清除处理过剩或失去功能胞浆蛋白和细胞器的过程, 对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用. 最近发现, 卡马西平促进肝细胞自噬治疗 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏肝纤维化, 对肝脏缺血再灌注保护作用不清楚.

■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

■研究前沿

相关研究表明,自噬保护肝脏缺血再灌注损伤,基因治疗和雷帕霉素促进自噬面临安全性、免疫抑制和高脂血症等不良反应。寻找临床不良反应较小的促自噬药物对治疗缺血再灌注具有重要意义。

结果:卡马西平阻止缺血再灌注小鼠肝脏LC3 II和自噬相关基因*Atg7*与*Beclin-1*的表达下降。卡马西平组缺血再灌注后2、6和12 h血清ALT/AST水平显著低于缺血再灌注组($P<0.01$)。卡马西平降低缺血再灌注6 h肝细胞Caspase3表达和HMGB1胞浆移位。抑制自噬的药物氯喹具有对抗卡马西平降低Caspase3表达、HMGB1胞浆移位和血清ALT/AST水平的效应。

结论:卡马西平通过促进肝细胞自噬保护肝脏缺血后再灌注损伤。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:卡马西平;缺血再灌注;自噬;高迁移率族蛋白B1胞浆移位

核心提示:本研究发现卡马西平增加缺血再灌注小鼠肝脏细胞自噬,降低血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase)/谷草转氨酶(aspartate transaminase)水平、Caspase3表达和高迁移率族蛋白B1(high mobility group box B1)胞浆移位。氯喹抑制自噬对抗卡马西平的上述效应。表明卡马西平促进肝细胞自噬保护缺血再灌注损伤,具有重要临床应用价值。

雷延昌, 罗盼, 李雯. 卡马西平保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3617-3622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3617>

0 引言

自噬是细胞依赖溶酶体及时清除或处理过剩的或失去功能的胞浆蛋白或细胞器的过程。自噬是主要的肝脏蛋白分解代谢方式,对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用。研究显示,上调自噬相关基因表达降低缺血再灌注损伤线粒体通透性增加,从而减轻其功能障碍^[1,2]。因此,促进自噬对肝脏缺血再灌注损伤具有潜在的治疗价值。然而,目前通过基因和药物增加自噬面临一些问题。基因治疗存在安全性、治疗效率、免疫反应、致突变和伦理方面问题^[3]。在药物方面,雷帕霉素及其类似物有效促进自噬,但存在免疫抑制和高脂血症等严重不良反应^[4,5]。最近发现,抗惊厥药物卡马西平降低细胞内肌醇水平促进自噬^[6]。并且发现,卡马西平用于治疗 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶($\alpha 1$ -antitrypsin, $\alpha 1$ -AT)缺乏肝纤维化,其作用机制是通过自噬降解突变的Z蛋白^[7,8]。为了解卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的作用,进行本研究。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄♂ Balb/c小鼠,体质量20 g \pm 0.5 g,由南昌大学医学院动物实验中心提供(动物质量合格证编号:2013091206),动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南。主要试剂:卡马西平(Carbamazepine, CBZ)和氯喹(Chloroquine, CQ)标准品购自中国生物制品检定所;兔抗鼠高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)(ABGENT公司,美国);兔抗鼠Caspase3(Scant Cruz公司,美国);兔抗鼠Atg7、Beclin-1和LC3 II(Cell signaling公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型及分组: Balb/c小鼠♂实验前12 h禁食,不禁水。将体质量和周龄相同的动物随机分为3组:缺血再灌注组(对照组)、卡马西平组、卡马西平+氯喹组,每组6只。肝脏缺血再灌注模型参照文献^[1]进行,采用动脉夹阻断肝脏血流1 h后释放形成再灌注。小鼠乙醚麻醉下打开胸腔,动脉夹住肝门1 h,释放动脉夹血流再灌注,无菌手术缝合腹部切口,敷料包扎。卡马西平组肝脏缺血再灌注前12 h给予卡马西平25 mg/kg腹腔注射,卡马西平+氯喹组,分别于缺血再灌注前12 h和6 h给予卡马西平(25 mg/kg)和磷酸氯喹(60 mg/kg)腹腔注射,肝脏缺血再灌注组给予等量PBS腹腔注射^[9,10]。

1.2.2 标本收集:肝脏缺血前、缺血1 h,再灌注后2、6、12、24、48 h动物乙醚麻醉眼眶采血50 μ L,分离血清置于-80 $^{\circ}$ C保存。分别在肝脏缺血1 h和再灌注后6 h处死部分动物,肝组织-80 $^{\circ}$ C冻存用于免疫印迹检测,40 g/L的中性甲醛固定肝组织,进行HE染色和免疫组织化学检测HMGB1表达。

1.2.3 血清生化检测:全自动生化分析仪检测丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)按照生产厂家说明书进行,根据标准曲线计算结果。

1.2.4 免疫印迹及其分析:取0.5 g肝组织研磨后加入1 mL含蛋白酶抑制剂混合物的双蒸水混匀-80 $^{\circ}$ C保存,取10 μ L样品加入90 μ L RIPA高效裂解液(碧云天,中国)充分裂解,6000 g离心30 s,加入50 μ L上样缓冲液,聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上,10%的BSA在4 $^{\circ}$ C封闭过夜,一抗37 $^{\circ}$ C孵育2 h,1:10000辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体37 $^{\circ}$ C孵育0.5 h,化学发光法检测结果。

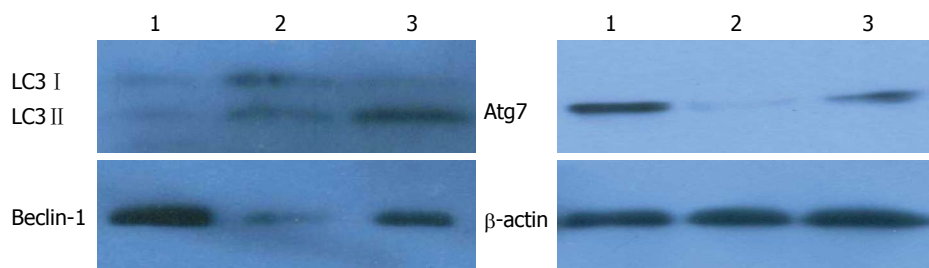


图1 免疫印迹检测卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠肝脏自噬相关基因Atg7和Beclin-1表达及对肝细胞自噬的影响. 1: 缺血1 h; 2: 缺血1 h后再灌注6 h; 3: 卡马西平25 mg/kg腹腔注射12 h, 缺血1 h后再灌注6 h. LC3: 微管相关蛋白1轻链3.

■ 相关报道

自噬保护肝脏缺血再灌注损伤, 促进自噬减轻脂肪性肝炎和肝癌发生, HBC和HCV促进肝细胞自噬利于其生存. 最近发现, 卡马西平促进肝细胞自噬治疗 α 1-抗胰蛋白酶缺乏肝纤维化.

统计学处理 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析, 数据资料以mean \pm SD表示, 两组均数之间的比较应用 t 检验, 两组样本率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 卡马西平对缺血再灌注小鼠肝细胞自噬相关基因Atg7和Beclin-1表达的影响 免疫印迹检测自噬特异性LC3 II表达显示, LC3 II在缺血期无明显表达, 而在再灌注6 h时LC3 II表达增加, 卡马西平促进肝脏缺血再灌注肝细胞LC3 II表达水平, 促进自噬(图1). 为进一步了解卡马西平对肝脏缺血再灌注肝细胞自噬的作用, 免疫印迹检测自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1表达显示, 卡马西平同样可以增加肝脏缺血再灌注肝细胞自噬相关蛋白的表达(图1). 表明卡马西平增加肝脏缺血再灌注肝细胞自噬.

2.2 卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平和肝脏Caspase3表达的影响 生化检测血清ALT水平可了解患者和小鼠肝细胞损伤的程度. 肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT水平在缺血1 h开始升高, 再灌注6 h达到峰值, 在12和24 h逐渐降低, 48 h恢复至正常水平. 卡马西平治疗降低血清ALT/AST水平, 其中再灌注2、6和12 h的ALT/AST水平与对照组差异有显著性($P<0.01$, 图2A, B). 表明, 卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用. 在本实验条件下, 肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色未发现肝细胞坏死. 为进一步了解卡马西平对肝脏缺血再灌注肝细胞保护作用, 免疫印迹检测肝细胞凋亡相关蛋白Caspase3的表达显示, 肝脏缺血再灌注6 h肝Caspase3的表达升高, 而卡马西平治疗组肝Caspase3的表达显著降低(图2C). 表明, 卡马西平具有保护缺血再灌注肝细胞凋亡的作用. 为了解卡马西平肝损伤保护作用与自噬的关系, 缺血再灌注前给予氯喹抑制自噬, 发现卡马西

平降低小鼠血清ALT、AST水平和肝脏缺血再灌注6 h肝Caspase3表达的作用消失(图2), 肝细胞损伤和凋亡有所增加. 提示卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用依赖于促进肝细胞自噬效应.

2.3 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的影响 肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色未发现肝细胞坏死(图3A, B), 但已经出现肝细胞凋亡. 免疫组织化学检测肝细胞HMGB1表达发现, 缺血再灌注6 h后接近三分之一肝细胞胞浆表达HMGB1, 发生HMGB1肝细胞胞浆移位, 而卡马西平治疗组HMGB1在肝细胞胞浆几乎无表达(图3C, D). 氯喹预处理抑制自噬抵消卡马西平抑制肝细胞HMGB1胞浆移位(图3E). 图像分析显示, 卡马西平组肝细胞HMGB1胞浆移位率显著低于对照组和卡马西平+氯喹组, 差异有显著性($P<0.01$, 图3F).

3 讨论

肝脏移植、手术、休克和心力衰竭等因素均可导致肝脏缺氧, 有氧代谢障碍、ATP减少和酸中毒, 再灌注恢复正常氧和营养物质浓度, 肝脏损伤加重, 发生缺血后再灌注损伤. 肝脏和其他一些组织在血流再灌注时线粒体通透性增加, 导致氧化磷酸化解偶联, 线粒体功能障碍和细胞死亡^[1]. 然而, 目前对缺血再灌注的线粒体功能障碍缺乏有效的治疗方法.

研究显示, 自噬在生理病理情况下都具有重要作用. 在生理情况下, 自噬主要为细胞提供营养. 在应激情况下, 如缺血再灌注、酒精和对乙酰氨基酚肝损伤和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激等, 自噬成为适应这些应激的一种反应^[12,9,11,12]. 本研究显示, 卡马西平提高缺血再灌注肝脏自噬水平, 降低ALT/AST水平和肝细胞凋亡, 并减轻肝细胞HMGB1胞浆移位, 从而保护缺血再灌注肝损伤, 具有潜在的治疗应用价值.

■ 创新盘点

本研究发现, 临床不良反应较小的卡马西平增加缺血再灌小鼠肝脏自噬, 降低血清ALT/AST、抑制肝细胞凋亡和HMGB1胞浆移位。

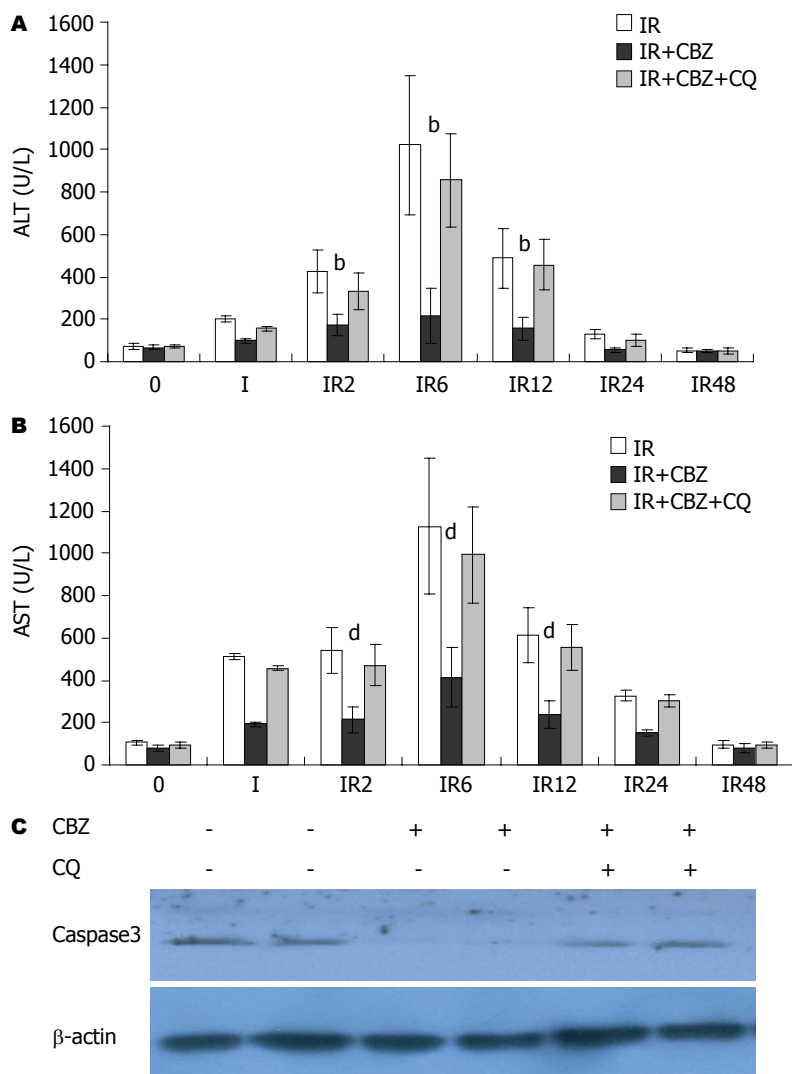


图2 卡马西平对肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平和肝脏Caspase3表达的影响。A: 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT水平。^b $P < 0.01$ vs 对照组。B: 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清AST水平。^d $P < 0.01$ vs 对照组。C: 卡马西平治疗肝脏缺血再灌注6 h肝脏Caspase3表达。I: 缺血1 h, IR2、6、12、24和48 h: 缺血再灌注2、6、12、24和48 h; CQ: 氯喹; CBZ: 卡马西平; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶。

最近在研究 $\alpha 1$ -AT肝纤维化的研究中发现, 抗惊厥药物卡马西平促进肝细胞自噬, 其机制是通过降低细胞内肌醇水平^[6-8]。本研究显示, 卡马西平25 mg/kg腹腔注射, 增加缺血再灌注6 h小鼠肝脏LC3 II表达水平, 促进肝细胞自噬。与之相一致, 卡马西平增加自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1表达。研究显示, 自噬相关蛋白Atg7和Beclin-1在肝损伤保护中具有重要作用, Atg7基因敲除小鼠肝脏出现异常线粒体聚集, 而Beclin-1缺失加重肝脏缺血再灌注损伤^[13-15]。卡马西平增加Atg7和Beclin-1表达进一步显示其自噬依赖的肝脏保护作用。

在本研究实验条件下, 小鼠肝脏缺血再灌注2 h后ALT/AST水平明显升高, 再灌注6 h达到峰值, 12 h仍维持在较高水平, 与国内外的研究一致^[16-19]。卡马西平治疗降低再灌注2、6和12 h的ALT/AST水平。然而, 缺血再灌注6 h肝组织HE染色并未发现肝细胞坏死, 但免疫印迹检测发现, 卡马西平降低缺血再灌注6 h肝脏Caspase3表达, 提

示卡马西平通过抑制肝细胞凋亡保护缺血再灌注肝损伤。

近年来发现, HMGB1在肝脏缺血后再灌注损伤发挥重要作用^[20]。正常情况下, HMGB1主要存在于胞核, 肝细胞坏死被动释放HMGB1, 炎症如LPS, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和缺氧等刺激肝细胞主动释放HMGB1, 从胞核至胞浆后释放, 放大炎症反应及其损伤^[20-23]。因此, 检测HMGB1肝细胞胞浆移位可以间接早期了解肝脏受损情况。研究显示, 急性肝衰竭患者和小鼠模型早期出现血清HMGB1升高和大量肝细胞HMGB1胞浆移位^[11,24-26]。因此, 检测肝细胞HMGB1胞浆移位可以间接早期了解肝脏受损情况。然而HMGB1胞浆移位肝脏缺血再灌注中的作用尚不清楚。本研究发现, 肝脏缺血再灌注6 h后虽然肝组织未出现肝细胞坏死, 但已出现Caspase3表达提示肝细胞凋亡, 同时出现大量肝细胞HMGB1胞浆移位, 而卡马西平治疗可显著减少HMGB1胞浆移位肝细胞数量。进

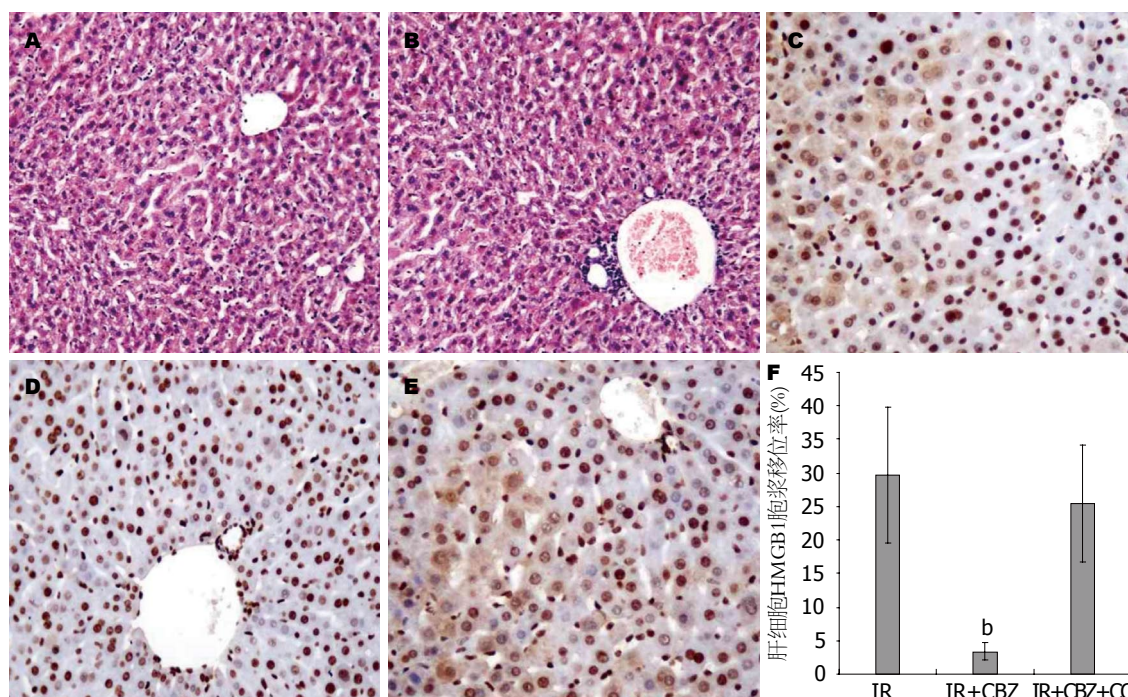


图3 卡马西平对缺血再灌注小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的影响($\times 200$)。A: 对照组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色; B: 卡马西平治疗组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HE染色; C: 对照组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织出现较多HMGB1肝细胞胞浆表达, 发生HMGB1胞浆移位; D: 卡马西平治疗组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HMGB1表达, 仅有少量肝细胞HMGB1胞浆移位; E: 卡马西平+氯喹组小鼠肝脏缺血再灌注6 h肝组织HMGB1表达; F: 对照组、卡马西平组和卡马西平+氯喹组肝细胞HMGB1胞浆移位率。^b $P < 0.01$ vs 对照组。IR: 缺血再灌注; CQ: 氯喹; CBZ: 卡马西平; HMGB1: 高迁移率蛋白B1。

应用要点

本实验研究发现卡马西平通过促进自噬保护肝脏缺血再灌注损伤, 值得进一步临床研究了解应用价值。

一步表明卡马西平对肝脏缺血再灌注保护作用。

已知, 氯喹是目前公认的已知自噬药物^[27,28], 为了解卡马西平肝损伤保护作用与自噬的关系, 缺血再灌注前给予氯喹阻断自噬, 发现卡马西平降低小鼠血清ALT/AST水平、Caspase3表达和肝细胞HMGB1胞浆移位的作用消失, 肝细胞损伤增加。提示卡马西平对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用依赖于促进肝细胞自噬效应。最近研究发现, 促进肝细胞自噬可以保护对乙酰氨基酚、D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GaIN)/LPS以及酒精对小鼠的肝细胞毒性, 抑制肝细胞自噬增加TNF- α 和D-GaIN诱导的肝细胞凋亡及损伤^[9,29-31]。本研究发现卡马西平增加肝细胞自噬是保护缺血再灌注肝损伤的机制之一。

本研究发现, 卡马西平降低肝脏缺血再灌注小鼠血清ALT/AST水平、Caspase3表达和肝细胞HMGB1胞浆移位, 自噬抑制剂氯喹使卡马西平的上述作用消失。表明, 卡马西平具有依赖自噬保护缺血再灌注肝损伤作用。该结果为卡马西平保护肝脏缺血再灌注损伤提供了新的理论基础, 具有重要的理论和应用价值, 应用卡马西平治疗缺血再灌注肝损伤值得进一步实验和临床研究。

参考文献

- Kim JS, Nitta T, Mohuczy D, O'Malley KA, Moldawer LL, Dunn WA, Behrns KE. Impaired autophagy: A mechanism of mitochondrial dysfunction in anoxic rat hepatocytes. *Hepatology* 2008; 47: 1725-1736 [PMID: 18311843 DOI: 10.1002/hep.22187]
- Wang JH, Ahn IS, Fischer TD, Byeon JI, Dunn WA, Behrns KE, Leeuwenburgh C, Kim JS. Autophagy suppresses age-dependent ischemia and reperfusion injury in livers of mice. *Gastroenterology* 2011; 141: 2188-2199. e6 [PMID: 21854730 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.08.005]
- Verma IM, Somia N. Gene therapy -- promises, problems and prospects. *Nature* 1997; 389: 239-242 [PMID: 9305836 DOI: 10.1038/38410]
- Brattström C, Wilczek H, Tydén G, Böttiger Y, Säwe J, Groth CG. Hyperlipidemia in renal transplant recipients treated with sirolimus (rapamycin). *Transplantation* 1998; 65: 1272-1274 [PMID: 9603181 DOI: 10.1097/00007890-199805150-00023]
- Hartford CM, Ratain MJ. Rapamycin: something old, something new, sometimes borrowed and now renewed. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 381-388 [PMID: 17728765 DOI: 10.1038/sj.clpt.6100317]
- Williams A, Sarkar S, Cuddon P, Tfofi EK, Saiki S, Siddiqi FH, Jahreis L, Fleming A, Pask D, Goldsmith P, O'Kane CJ, Floto RA, Rubinsztein DC. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway. *Nat Chem Biol* 2008; 4: 295-305 [PMID: 18391949 DOI: 10.1038/nchembio.79]
- Hidvegi T, Ewing M, Hale P, Dippold C, Beckett

■同行评价

本文具有一定的基础和临床应用价值。

- 8 Puls F, Goldschmidt I, Bantel H, Agne C, Bröcker V, Dämmrich M, Lehmann U, Berrang J, Pfister ED, Kreipe HH, Baumann U. Autophagy-enhancing drug carbamazepine diminishes hepatocellular death in fibrinogen storage disease. *J Hepatol* 2013; 59: 626-630 [PMID: 23707368 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.018]
- 9 Ni HM, Bockus A, Boggess N, Jaeschke H, Ding WX. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology* 2012; 55: 222-232 [PMID: 21932416 DOI: 10.1002/hep.24690]
- 10 Kawaguchi T, Kodama T, Hikita H, Tanaka S, Shigekawa M, Nawa T, Shimizu S, Li W, Miyagi T, Hiramatsu N, Tatsumi T, Takehara T. Carbamazepine promotes liver regeneration and survival in mice. *J Hepatol* 2013 Jul 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23872603 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.018]
- 11 Ding WX, Li M, Chen X, Ni HM, Lin CW, Gao W, Lu B, Stolz DB, Clemens DL, Yin XM. Autophagy reduces acute ethanol-induced hepatotoxicity and steatosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 1740-1752 [PMID: 20659474 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.041]
- 12 Czaja MJ, Ding WX, Donohue TM, Friedman SL, Kim JS, Komatsu M, Lemasters JJ, Lemoine A, Lin JD, Ou JH, Perlmutter DH, Randall G, Ray RB, Tsung A, Yin XM. Functions of autophagy in normal and diseased liver. *Autophagy* 2013; 9: 1131-1158 [PMID: 23774882 DOI: 10.4161/auto.25063]
- 13 Komatsu M, Waguri S, Ueno T, Iwata J, Murata S, Tanida I, Ezaki J, Mizushima N, Ohsumi Y, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K, Chiba T. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol* 2005; 169: 425-434 [PMID: 15866887 DOI: 10.1083/jcb.200412022]
- 14 Pickford F, Masliah E, Britschgi M, Lucin K, Narasimhan R, Jaeger PA, Small S, Spencer B, Rockenstein E, Levine B, Wyss-Coray T. The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 2190-2199 [PMID: 18497889 DOI: 10.1172/JCI33585]
- 15 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402: 672-676 [PMID: 10604474 DOI: 10.1038/45257]
- 16 向进见, 田夫, 李文岗, 李明忠, 蒋雪峰, 程本静. 姜黄素对大鼠肝缺血再灌注早期肝组织一氧化氮表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 987-992
- 17 黄汉飞, 宋飞, 张玉君, 喻智勇, 段键, 徐王刚, 陈明清, 曾仲. 缺血后处理在大鼠肝移植缺血再灌注损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3627-3631
- 18 Stewart RK, Dangi A, Huang C, Murase N, Kimura S, Stolz DB, Wilson GC, Lentsch AB, Gandhi CR. A novel mouse model of depletion of stellate cells clarifies their role in ischemia/reperfusion- and endotoxin-induced acute liver injury. *J Hepatol* 2013; Sep 20. [Epub ahead of print] [PMID: 24060854 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.09.013]
- 19 Hou J, Xia Y, Jiang R, Chen D, Xu J, Deng L, Huang X, Wang X, Sun B. PTIPRO plays a dual role in hepatic ischemia reperfusion injury through feedback activation of NF- κ B. *J Hepatol* 2013 Oct 12. [Epub ahead of print] [PMID: 24128416 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.09.028]
- 20 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240 DOI: 10.1084/jem.20042614]
- 21 Zhou RR, Zhao SS, Zou MX, Zhang P, Zhang BX, Dai XH, Li N, Liu HB, Wang H, Fan XG. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 21 [PMID: 21406085 DOI: 10.1186/1471-230X-11-21]
- 22 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600 DOI: 10.1126/science.285.5425.248]
- 23 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890]
- 24 Li X, Wang LK, Wang LW, Han XQ, Yang F, Gong ZJ. Cisplatin Protects against Acute Liver Failure by Inhibiting Nuclear HMGB1 Release. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 11224-11237 [PMID: 23712360 DOI: 10.3390/ijms140611224]
- 25 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1396-1401
- 26 雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2009-2015
- 27 Ni HM, Jaeschke H, Ding WX. Targeting autophagy for drug-induced hepatotoxicity. *Autophagy* 2012; 8: 709-710 [PMID: 22441014 DOI: 10.4161/auto.19659]
- 28 Fang H, Liu A, Dahmen U, Dirsch O. Dual role of chloroquine in liver ischemia reperfusion injury: reduction of liver damage in early phase, but aggravation in late phase. *Cell Death Dis* 2013; 4: e694 [PMID: 23807223 DOI: 10.1038/cddis.2013.225]
- 29 Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X, Dong XC, Yin XM. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol* 2013; 58: 993-999 [PMID: 23339953 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.011]
- 30 Amir M, Zhao E, Fontana L, Rosenberg H, Tanaka K, Gao G, Czaja MJ. Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ* 2013; 20: 878-887 [PMID: 23519075 DOI: 10.1038/cdd.2013.21]
- 31 Ding WX. Induction of autophagy, a promising approach for treating liver injury. *Hepatology* 2013 Jun 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23775596 DOI: 10.1002/hep.26572]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



SDF-1 α /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠

刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟

刘星星, 范恒, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

段雪云, 湖北中医药大学附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061

刘星星, 2011级华中科技大学同济医学院在读博士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81273906

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 实验过程由刘星星、段雪云、寿折星、左冬梅、张丽娟、曹丹及邹舟操作完成; 范恒与唐庆指导; 数据分析由刘星星完成; 本论文写作由刘星星与范恒完成。

通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com

电话: 027-85726395 传真: 027-85726395

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-10-25

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-11-28

SDF-1 α /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Xue-Yun Duan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Dong-Mei Zuo, Li-Juan Zhang, Dan Cao, Zhou Zou

Xing-Xing Liu, Heng Fan, Qing Tang, Zhe-Xing Shou, Dong-Mei Zuo, Li-Juan Zhang, Dan Cao, Zhou Zou, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Xue-Yun Duan, Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81273906

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Street, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com.

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-10-25

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To investigate whether the stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α)/chemokine receptor 4 (CXCR4) axis mediates the therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells

(BMSCs) for 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-colitis in rats.

METHODS: BMSCs were isolated from Sprague-Dawley (SD) rats and identified by flow cytometry. Lentivirus transfection was applied to over-express CXCR4/GFP (Ad-CXCR4-BMSCs) or null/GFP (Ad-GFP-BMSCs), and Western blot was applied to detect the protein expression of CXCR4 in BMSCs. Thirty-two SD rats were randomly divided into four groups ($n = 8$ for each group): a control group, a model group, an Ad-GFP-BMSCs group and an Ad-CXCR4-BMSCs group. Experimental colitis was induced with TNBS, and Ad-CXCR4-BMSCs or Ad-GFP-BMSCs were administered intravenously. One week after cell therapy, the colons were harvested. The expressions of GFP and SDF-1 α in colon tissues were measured by Western blot and immunofluorescence.

RESULTS: The cell viability was approximately 90%, and 80% of BMSCs steadily carried the GFP protein after lentivirus transfection. Compared with the control group, the protein expression of SDF-1 α was distinctly increased in injured colon in the model group. One week after cell therapy, Ad-GFP-BMSCs failed to colonize in the inflamed colon and had no beneficial effect on pathological inflammation score compared to the vehicle group (3.50 ± 0.53 vs 3.62 ± 0.52 , $P > 0.05$). Compared with the model group, Ad-CXCR4-BMSCs signally down-regulated the disease activity index (2.71 ± 0.28 vs 3.88 ± 0.17 , $P < 0.01$) and pathological inflammation score (2.25 ± 0.71 vs 3.62 ± 0.52 , $P < 0.01$). Compared to the Ad-GFP-BMSCs group, the protein expression of GFP was significantly increased in the Ad-CXCR4-BMSCs group (0.70 ± 0.34 vs 0.10 ± 0.12 , $P < 0.01$).

CONCLUSION: Our findings suggest that the SDF-1 α /CXCR4 axis plays a crucial role in BMSCs migration toward injured colon, which may provide an attractive target for BMSCs-based therapies for IBD.

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的疗效迄今仍不理想, 迫切需要探寻新的有效治疗手段。间充质干细胞(marrow-derived mesenchymal stem cells, MSCs)因具有多分化潜能, 在体内能参与损伤组织修复, 而广泛的应用与组织工程和细胞治疗。但体外扩增的MSCs输入体内后向IBD归巢效率低下。而已知基质细胞衍生因子 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)/趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)轴能调控MSCs的归巢。本研究通过重组慢病毒技术构建过表达CXCR4的骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs), 观察其向炎症结肠定向迁移情况, 并探讨BMSCs对IBD实验模型的黏膜修复、抗炎和免疫调节作用。

■同行评议者

高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

■ 研发前沿

由于BMSCs经体外扩增后其表面的CXCR4表达明显下降,导致归巢能力降低。本文研究重点是利用慢病毒载体转染BMSCs使其过表达CXCR4蛋白。重点观察SDF-1 α /CXCR4轴能否促进BMSCs向炎症肠道归巢而增强对IBD的疗效。

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Chemokine receptor 4; Homing; Inflammatory bowel disease; Lentivirus

Liu XX, Fan H, Duan XY, Tang Q, Shou ZX, Zou DM, Zhang LJ, Cao D, Zou Z. SDF-1 α /CXCR4 axis facilitates BMSCs homing toward injured colon in rats with experimental colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3623-3630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3623>

摘要

目的: 调查基质细胞衍生因子 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)/趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)轴在骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)治疗2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的结肠炎中的作用。

方法: 从SD大鼠骨髓中分离BMSCs并使用流式细胞术鉴定。通过慢病毒技术使BMSCs表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP; Ad-GFP-BMSCs)或共表达CXCR4和GFP(Ad-CXCR4-BMSCs), Western blot检测BMSCs转染前后CXCR4蛋白表达。32只大鼠被随机分成4组($n=8$): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组和Ad-CXCR4-BMSCs组。采用TNBS诱导实验性结肠炎,尾静脉注射Ad-CXCR4-BMSCs或Ad-GFP-BMSCs治疗结肠炎大鼠。细胞治疗1 wk后收集结肠组织,免疫荧光以及Western blot检测结肠部位GFP和SDF-1 α 表达。

结果: 慢病毒转染后BMSCs的存活率大约为90%, 80%的BMSCs能够稳定表达GFP蛋白。相对空白组,结肠炎大鼠结肠部位SDF-1 α 表达明显上升。尾静脉注射治疗1 wk后,与正常组比较,Ad-GFP-BMSCs组不能迁移至受损结肠并显著的下降炎症病理分数(3.50 ± 0.53 vs 3.62 ± 0.52 , $P>0.05$)。与模型组比较,Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的下降结肠炎疾病活动指数(2.71 ± 0.28 vs 3.88 ± 0.17 , $P<0.01$)和病理炎症分数(2.25 ± 0.71 vs 3.62 ± 0.52 , $P<0.01$)。与Ad-GFP-BMSCs组比较,Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位GFP蛋白表达明显增高(0.70 ± 0.34 vs 0.10 ± 0.12 , $P<0.01$)。

结论: SDF-1 α /CXCR4轴在BMSCs归巢于受损的结肠部位中发挥重要的作用,可能为炎症性

肠病的细胞治疗提供潜在的方法和理论依据。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 间充质干细胞; 趋化因子受体4; 归巢; 炎症性肠病; 慢病毒

核心提示: 成功构建稳定过表达趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)的骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs), 证实上调CXCR4能促进外源性BMSCs向炎症肠道归巢进而增强对炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的治疗作用, 并探讨其机制, 为临床有效应用BMSCs治疗IBD提供理论参考。

刘星星, 范恒, 段雪云, 唐庆, 寿折星, 左冬梅, 张丽娟, 曹丹, 邹舟. SDF-1 α /CXCR4轴促进间充质干细胞归巢于实验性结肠炎受损结肠. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3623-3630 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3623.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3623>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以结肠黏膜慢性炎症和溃疡形成为主要病理特点的疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。近年来大量证据表明异常的免疫和炎症应答是IBD发病的关键机制。慢性炎症破坏了肠道上皮层并形成了黏膜溃疡, 抑制炎症的过程伴随着肠道组织重塑^[1]。通过干细胞技术和组织工程技术定向诱导特定的细胞以替代功能障碍的细胞或组织缺损, 这可能是治疗肠道疾病的根本办法^[2]。骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 在组织工程、细胞移植、基因治疗等方面已被广泛应用^[3,4]。但是外源性的BMSCs输入体内后向受损的肠道归巢的效率是非常低下的^[5]。大量研究表明基质细胞衍生因子1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)与其特异性受体趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)能调控BMSCs归巢于受损组织^[6,7]。本研究通过重组慢病毒技术构建过表达CXCR4的BMSCs, 观察其向炎症结肠定向迁移情况, 并探讨BMSCs对IBD实验模型的黏膜修复、抗炎和免疫调节作用。

1 材料和方法

1.1 材料 34只♀ SPF级SD大鼠, 购自湖北省疾病

预防控制中心[许可证号: SCXK(鄂)2010-0057], 其中4周龄大鼠2只, 体重150 g \pm 20 g, 用于提取和培养BMSCs; 8-10周龄大鼠32只, 体重250 g \pm 30 g, 用于分组实验; 2,4,6-三硝基苯磺酸(Sigma, P2297); 10%胎牛血清(fetal calf serum, FBS, Gibco, P16000-044); 细胞培养用青霉素-链霉素混合液(Solarbio, P1400-100); Lentivirus^{Null/CXCR4}和Lentivirus^{GFP/CXCR4}(上海吉凯基因, GOSL29538); 细胞培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM, 北京赛默飞世尔生物, SH30021.01B); 胰蛋白酶(杭州吉诺生物, P13010501); FITC标记抗体CD29、CD45、CD90、CD11b(Biolegend); 兔抗大鼠绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)多克隆抗体(Chemicon, MAB3580); RIPA裂解液(Beyotime, P0012A); 兔抗大鼠CXCR4多克隆抗体(Abcam, ab2074); 兔抗大鼠SDF-1 α 多克隆抗体(Abcam, ab9797); 羊抗兔IgG二抗(Beyotime, A0208); 荧光显微镜(Nikon); 流式细胞仪(Becton-Dickinson Biosciences).

1.2 方法

1.2.1 BMSCs的分离、培养和鉴定: 取4周龄♀大鼠颈椎脱臼处死, 750 mL/L乙醇浸泡15 min. 无菌条件下分离胫骨、股骨, 剪开胫骨、股骨干骺端, 再用1 mL注射器吸取预冷磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗骨髓腔, 获得骨髓细胞悬液, 置于含有10%FBS和双抗(青霉素100 U/mL、链霉素100 U/L)的DMEM中, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO₂培养箱中培养. 24 h后首次半量换液, 然后每3 d全量换液. 当黏附细胞长到80%融合时加入胰蛋白酶消化传代, 经3-4次传代后得到纯化的BMSCs后可用于后续实验. 取生长状态良好的3代BMSCs, 加入胰蛋白酶消化, PBS冲洗获得细胞悬液. 加入anti-CD29-PE-Cy7、anti-CD90-Alexa Fluor488、anti-CD45-PE、anti-CD11b-Fluor647, 4 $^{\circ}$ C, 孵育30 min, 送流式细胞仪检测, CellQuest TM软件分析实验结果.

1.2.2 结肠炎模型的建立: 禁食24 h后, SD大鼠给予10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉. 将聚乙烯导尿管缓缓插入大鼠肛门8 cm, 先后缓缓注入500 mL/L的乙醇溶液0.25 mL和TNBS 0.6 mL, 将大鼠提尾倒置30 s, 然后以特伦德伦伯卧位放置以避免液体流出. 待大鼠清醒后可自由饮食和进水.

1.2.3 慢病毒转染: 慢病毒构建由上海吉凯基因公司合成, 慢病毒载体元件顺序为Ubi-MCS-GFP,

克隆位点为Age I/Age I. Lentivirus^{CXCR4/GFP}能够共表达CXCR4和增强型GFP, Lentivirus^{Null/GFP}仅表达荧光标志物GFP. 第3代BMSCs经胰蛋白酶消化后按4 \times 10³/孔接种于含有10% FBS和DMEM的12孔培养板中, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO₂培养24 h. 然后以20的感染复数(multiplicity of infection, MOI)进行慢病毒转染. 转染Lentivirus^{CXCR4/GFP}的细胞命名为Ad-CXCR4-BMSCs, 转染Lentivirus^{Null/GFP}的细胞命名为Ad-GFP-BMSCs, 并作为阴性对照组. 转染后的细胞置于荧光显微镜下观察细胞存活率、转染效率以及GFP蛋白表达.

1.2.4 疾病活动指数: 利用疾病活动指数(disease activity index, DAI)来评估TNBS诱导的结肠炎的严重程度. DAI是由体质量丢失比例、大便黏稠度和便血程度组成, 具体的评分标准如下^[8]: (1)体质量丢失比例(0: <1%; 1: 1%-5%; 2: 5.1%-10%; 3: 10.1%-15%; 4: >15%); (2)大便黏稠度(0: 正常大便; 2: 软便; 4: 液状便); (3)便血程度(0: 无潜血; 2: 阳性潜血; 4: 肉眼血便).

1.2.5 实验分组及治疗: 在1 wk的驯化期后, 32只♀SD大鼠被随机分成4组($n=8$): 空白组、模型组、Ad-GFP-BMSCs组和Ad-CXCR4-BMSCs组. 在整个实验过程中, 每天记录大鼠的DAI, 每组大鼠都通过尾静脉注射治疗. 第1天, 除空白组外, 其余3组均给予TNBS诱导结肠炎. 第4天, 结肠炎组大鼠分别接受PBS、Ad-GFP-BMSCs(2 \times 10⁶/mL)或Ad-CXCR4-BMSCs(2 \times 10⁶/mL)各1 mL. 第11天, 大鼠禁食24 h后行麻醉剖腹手术. 迅速取下完整结肠并测量其长度, 然后末端结肠被纵向打开, 用生理盐水轻微冲洗结肠, 收集结肠并用于多种研究.

1.2.6 病理学评估: 迅速把末端结肠样本固定在4%的甲醛中并用石蜡包埋, 切片机制成厚约4 μ m的结肠切片并用苏木精和曙红(hematoxylin and eosin, HE)染色, 然后进行病理学分析. 我们利用结肠炎症病理分数来评估结肠受损程度, 具体标准如下^[9]: 400倍显微镜下, 0: 结肠黏膜含0-1个多形核细胞/高倍视野(polymorphonuclear cell/high power field, PMN/hpf); 1: 2-10 PMN/hpf; 2: 11-20 PMN/hpf; 3: 21-30 PMN/hpf; 4: >30 PMN/hpf.

1.2.7 免疫荧光检测: 用O.C.T混合物包埋结肠组织并储存于液氮中, 冰冻切片机制作厚8 μ m的结肠冰冻切片. 冰冻切片混入丙酮固定10 min, PBS冲洗2次, 10%FBS封闭1 h. 冰冻切片加入羊抗大鼠GFP抗体4 $^{\circ}$ C过夜, 随后加入FITC标记的

■ 相关报道

SDF-1 α /CXCR4轴在药物趋化作用、肿瘤转移和干细胞归巢中发挥重要作用, SDF-1 α /CXCR4轴能广泛的应用与其他疾病及机制研究中, 值得借鉴和引用.

■创新盘点

本研究首次通过慢病毒构建过表达CXCR4的BMSCs,并探讨上调CXCR4的BMSCs能否促进其归巢于受损结肠从而增强IBD疗效。

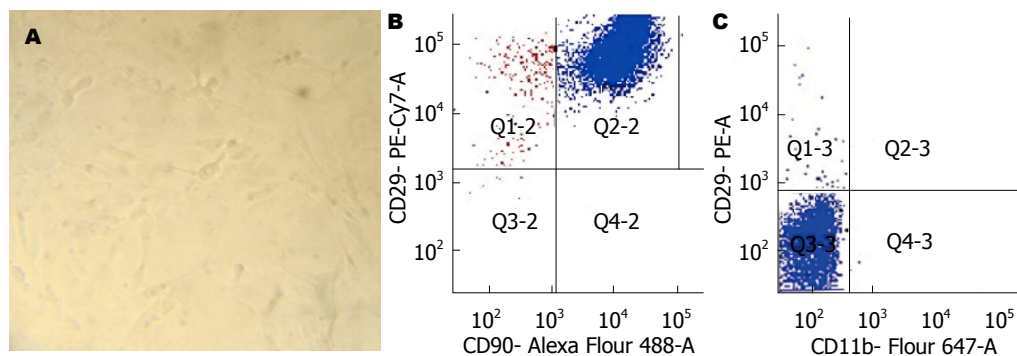


图1 BMSCs形态学特征及表型鉴定. A: 光镜下第3代BMSCs(×100); B: 共表达CD29和CD90鉴定; C: 共表达CD45和CD11b鉴定. BMSCs: 骨髓间充质干细胞.

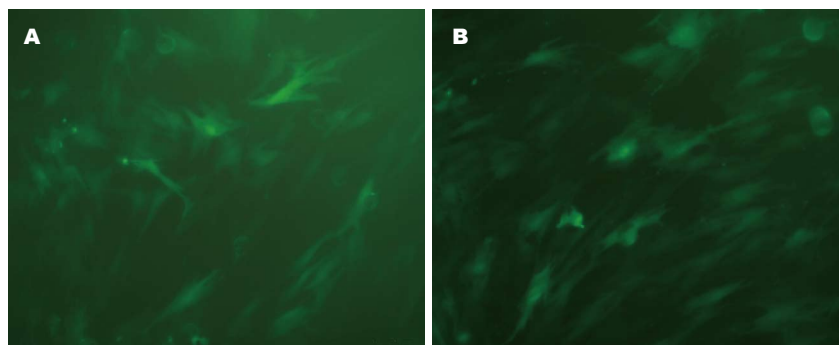


图2 BMSCs表达GFP蛋白(荧光显微镜下, ×100). A: Lentivirus^{Null/GFP}转染BMSCs; B: Lentivirus^{CXCR4/GFP}转染BMSCs. BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4.

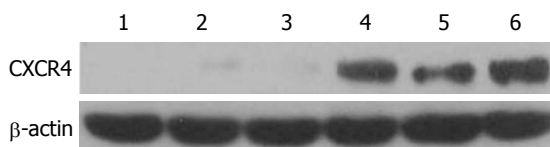


图3 CXCR4在各代BMSCs中的表达. 1-3: 1-3代BMSCs; 4-6: 3-5代Ad-CXCR4-BMSCs. CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞.

二抗孵育, 标记的冰冻切片随后置于荧光显微镜下进行观察.

1.2.8 Western blot检测: 将RIPA裂解液加入BMSCs或结肠组织中充分裂解, 3000 r/min, 4℃离心15 min, 取上清获得蛋白萃取物. 将萃取蛋白在200 V电压下进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并电转移至聚偏氟乙烯膜. 用包含5%脱脂奶粉的洗涤缓冲液进行蛋白封闭2 h, 先后加入抗-SDF-1α抗体和抗-GFP抗体, 4℃过夜, 然后分别加入酶标羊抗兔Ig-G2抗并进行化学发光分析.

统计学处理 实验计量数据以mean±SE表示, 两组间差异采用 t 检验, 多组间均数差异采用单因素方差分析, 采用SPSS18.0统计软件进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 BMSCs形态学特征及表型鉴定 原代培养的BMSCs约5 h开始贴壁, 纯化后的细胞大部分呈梭型, 漩涡状生长. 经过消化、传代, 第3代BMSCs用于流式细胞术表型鉴定. 结果显示: BMSCs高表达CD29和CD90, 而几乎不表达CD45和CD11b(图1), 表明纯化后的细胞为BMSCs.

2.2 慢病毒转染结果 慢病毒转染后48 h, BMSCs的存活率大约为90%, 约80%的BMSCs能够稳定表达GFP蛋白(图2). 通过Western blot检测, 我们发现1-3代BMSCs几乎不能表达CXCR4, 但是在转染Lentivirus^{CXCR4/GFP} 48 h后, 3代Ad-CXCR4-BMSCs表达CXCR4蛋白量明显升高, 我们继续传代至第5代, Ad-CXCR4-BMSCs仍能稳定高表达CXCR4(图3).

2.3 结肠炎模型评估及治疗 造模后第4 d, 结肠炎大鼠出现明显的体质量下降、腹泻、黏液脓血便、食欲下降、毛色欠光滑、活动迟缓等症状. 相对于空白组, 模型组的DAI分数显著上升($P<0.01$). 与模型组相比, 尾静脉注射Ad-GFP-BMSCs并不能缓解大鼠的体质量下降、腹泻和血便等症状. 相反的是, 在第10天和第12天,

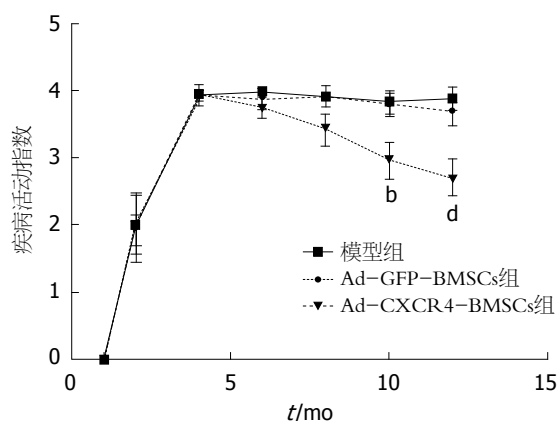


图4 疾病活动指数。^b $P<0.01$ vs 模型组; ^d $P<0.01$ vs 模型组。GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的下降低分DAI分数($P<0.01$), 意味着结肠炎大鼠严重的症状得到了明显的改善(图4)。第12天, 我们可以观察到模型组大鼠结肠肠管长度变短, 管腔明显变粗, 肠壁变薄, 部分大鼠出现严重的肠壁间渗出和黏连。对结肠进行病理学分析可见模型组大鼠结肠黏膜腺体排列不规则、水肿、充血、糜烂、浅表或线状溃疡。黏膜层或黏膜下层可见大量的炎性渗透物如淋巴细胞和巨噬细胞聚集(图5)。通过显微镜半定量计数评分, 模型组的病理炎症分数较空白组显著增加($P<0.01$)。与模型组比较, Ad-CXCR4-BMSCs能够显著的修复受损的肠道黏膜并下降病理炎症分数($P<0.01$), 但Ad-GFP-BMSCs组和模型组之间比较病理炎症分数并无统计学差异(图6)。

2.4 Western blot和免疫荧光检测结果 Western blot结果表明: 与正常组比较, 在受损的结肠部位SDF-1 α 蛋白表达显著升高(图7)。为了观察外源性BMSCs向受损结肠迁移效率, BMSCs被标记上GFP并通过尾静脉注射进SD大鼠。免疫荧光结果显示GFP蛋白零星的表达于Ad-GFP-BMSCs组结肠, 但是却广泛的表达于Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位(图8)。通过Western blot也表明相对于Ad-GFP-BMSCs组, Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位GFP蛋白表达明显升高($P<0.01$, 图7)。

3 讨论

临床上IBD治疗的主要药物(如柳氮磺胺嘧啶、糖皮质激素、免疫抑制剂)并不能持续有效地缓解IBD的病情并会带来大量的不良反应, 因此科

研者急需探索新的治疗方法。在此项研究中, 我们首先探索了BMSCs在实验性结肠炎中的治疗效果以及潜在的作用机制。TNBS诱导的模型是一个稳定并广泛应用的结肠炎模型^[5,10], 他在组织学及免疫学方面都非常类似于人类的CD, 主要表现为强烈的细胞浸润以及分泌大量的Th1型细胞因子比如干扰素- γ 和肿瘤坏死因子- α ^[11]。本研究通过直肠灌注TNBS迅速的建立起严重的结肠炎模型, 大鼠表现为急剧上升的DAI分数、严重的结肠病理学改变以及大量的炎性细胞浸润。

干细胞(stem cell, SC)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 在一定条件下, 他可以分化成多种功能细胞。BMSCs是一种存在于骨髓中的非造血干细胞, 易于体外培养扩增, 并在培养过程中保持多分化潜能, 其具有遗传背景稳定, 体内植入排斥反应较弱等特点, 所以他被认为是一种用于组织工程和细胞治疗的理想细胞^[12,13]。BMSCs作为一种新的治疗方法能治疗炎症介导的多种疾病^[14-16]。有研究证实, 静脉注射BMSCs能有效治疗TNBS诱导的炎症性肠病^[17,18], 他能够显著减缓UC的症状, 抑制炎症因子分泌, 提高白介素-10的表达, 同时抑制Th1细胞活性^[19]。虽然BMSCs在再生医学中具有很大的治疗潜力, 但是也有大量研究表明系统释放的BMSCs到达受损组织的效率是非常低下的, 循环的BMSCs大部分停留于肺血管床^[5,20,21]。本实验也通过Western blot和免疫荧光技术证实了在Ad-GFP-BMSCs组大鼠结肠部位只能发现极其微量的GFP表达, 表明单纯通过尾静脉注射的BMSCs并不能有效的迁移至受损的结肠部位。DAI分数以及病理学分析也表明Ad-GFP-BMSCs并没有有效的缓解实验性结肠炎。最近有研究进一步明确证实了在TNBS诱导的结肠炎中, 静脉注射的BMSCs迅速的聚集在肺、心、肝、肾等组织器官而没有证据发现其归巢于结肠组织^[5]。外源性的BMSCs能否成功的到达受损的结肠黏膜就成了IBD细胞治疗的关键因素。

SDF-1 α 是趋化因子亚家族成员之一, 他在药物的趋化作用、肿瘤转移以及干细胞归巢中扮演者重要作用^[22]。CXCR4属于G蛋白偶联的7次跨膜的趋化因子受体, 在体内许多细胞, 尤其在造血干/祖细胞的表面均有CXCR4的构成性表达。目前认为SDF-1 α 是CXCR4的唯一生理配体, CXCR4也是SDF-1的唯一受体, 两者的亲和

■应用要点

本文不仅能为有效利用BMSCs临床治疗IBD提供理论参考, 而且有助于更深入理解BMSCs在IBD体内的归巢及治疗机制。

■同行评价

IBD被世界卫生组织列为难治性疾病,寻求新的治疗方法成为当务之急,BMSCs具有很强的分化和免疫调节作用,有望成为治疗IBD的新方法.BMSCs体外扩增后,其表面CXCR4表达下调,将导致BMSCs归巢能力下降,本研究通过慢病毒使BMSCs过表达CXCR4,成功诱导其向炎症肠道的迁徙,增强BMSCs对IBD的治疗效果。

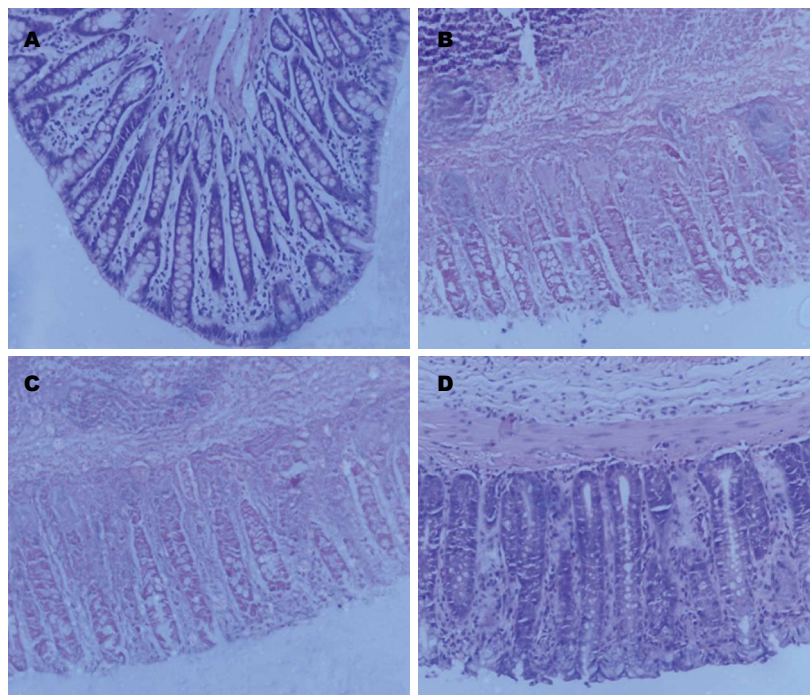


图 5 各组大鼠结肠组织病理学分析(HE × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: Ad-GFP-BMSCs组; D: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

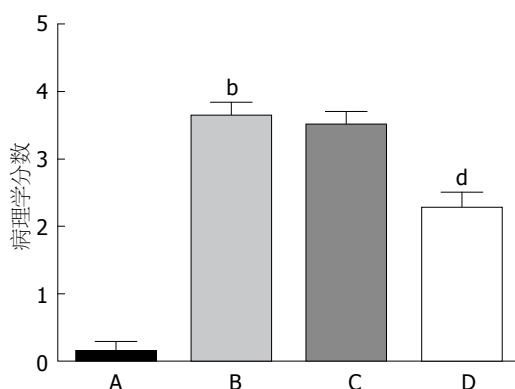


图 6 各组大鼠结肠组织病理学评估. A: 正常组; B: 模型组; C: Ad-GFP-BMSCs组; D: Ad-CXCR4-BMSCs组. ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^d $P < 0.01$ vs 模型组. GFP: 绿色荧光蛋白; CXCR4: 趋化因子受体4; BMSCs: 骨髓间充质干细胞。

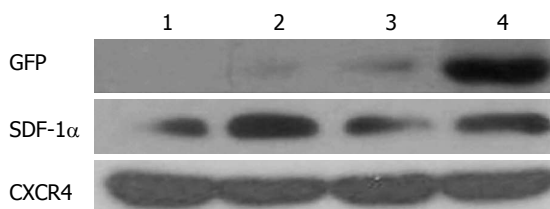


图 7 各组结肠组织SDF-1α和GFP蛋白表达. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: Ad-GFP-BMSCs组; 4: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; SDF-1α: 基质细胞衍生因子; BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4。

力很高^[23]. 有研究显示SDF-1能特异的对CXCR4产生趋化作用, 表达CXCR4的干细胞能够沿着SDF-1α的浓度梯度迁移实现归巢过程^[15,24]. 跟先前的报道相类似^[25], 本实验也证实在TNBS

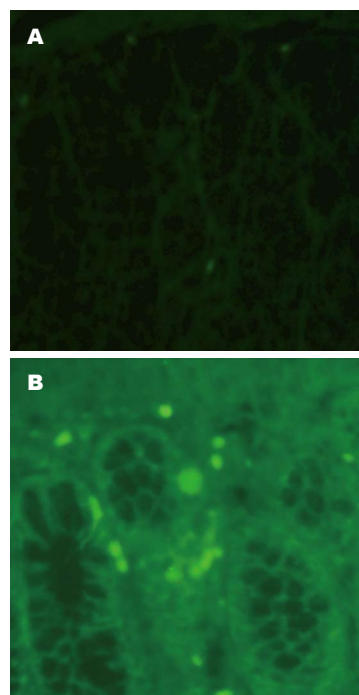


图 8 各组结肠组织GFP表达(× 200). A: Ad-GFP-BMSCs组; B: Ad-CXCR4-BMSCs组. GFP: 绿色荧光蛋白; BMSCs: 骨髓间充质干细胞; CXCR4: 趋化因子受体4。

诱导的结肠炎模型中, 受损结肠部位的SDF-1α表达持续升高. 但是外源性的BMSCs并不能表达足够量的CXCR4蛋白^[26], 这将阻碍BMSCs有效的迁移和归巢于受损的结肠部位. 慢病毒载体是以人类免疫缺陷型病毒为基础发展起来的基因治疗载体, 他对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力, 并可以在体内较长期的表达且

安全性高。慢病毒载体能够有效的转移并长期的表达外源基因, 其在基础实验研究中具有广阔的前景^[27,28]。本实验通过重组慢病毒技术成功的构建了Ad-CXCR4-BMSCs并使其过表达CXCR4蛋白。同时该慢病毒载体技术能够共表达增强型GFP, GFP能够用来有效的示踪BMSCs在活体内的迁移^[29]。本研究发现Ad-CXCR4-BMSCs组大鼠临床症状及结肠病理变化都得到了显著的改善。同时Western blot和免疫荧光技术也证实了Ad-CXCR4-BMSCs组结肠部位的GFP蛋白表达比Ad-GFP-BMSCs组升高, 这些都表明SDF-1 α /CXCR4轴有效地提高了尾静脉注射的BMSCs迁移至受损结肠部位的效率。在治疗机制方面, 越来越多的证据表明BMSCs能够通过分化成结肠上皮层或基质层细胞来修复肠道组织^[10,30]。另一方面, BMSCs也可能通过发挥抗炎和免疫调节功能来治疗炎症性肠病^[31]。

总之, 我们的实验阐明了相对于正常BMSCs, 静脉注射过表达CXCR4的BMSCs能够更有效的迁移至受损的结肠部位, 减轻和修复结肠损伤, 改善TNBS诱导的结肠炎症状。这些结论可能给SDF-1 α /CXCR4轴在BMSCs的IBD治疗提供新的思路 and 理论依据。

4 参考文献

- Andoh A, Bamba S, Fujiyama Y, Brittan M, Wright NA. Colonic subepithelial myofibroblasts in mucosal inflammation and repair: contribution of bone marrow-derived stem cells to the gut regenerative response. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1089-1099 [PMID: 16378172 DOI: 10.1007/s00535-005-1727-4]
- Scharl M, McCole DF, Weber A, Vavricka SR, Frei P, Kellermeier S, Pesch T, Fried M, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase N2 regulates TNF α -induced signalling and cytokine secretion in human intestinal epithelial cells. *Gut* 2011; 60: 189-197 [PMID: 21115548 DOI: 10.1136/gut.2010.216606]
- Shi M, Liu ZW, Wang FS. Immunomodulatory properties and therapeutic application of mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 1-8 [PMID: 21352202 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04327.x]
- Boyd AS, Fairchild PJ. Approaches for immunological tolerance induction to stem cell-derived cell replacement therapies. *Expert Rev Clin Immunol* 2010; 6: 435-448 [PMID: 20441429 DOI: 10.1586/eci.10.20]
- Castelo-Branco MT, Soares ID, Lopes DV, Buongusto F, Martinusso CA, do Rosario A, Souza SA, Guttilen B, Fonseca LM, Elia C, Madi K, Schanaider A, Rossi MI, Souza HS. Intraperitoneal but not intravenous cryopreserved mesenchymal stromal cells home to the inflamed colon and ameliorate experimental colitis. *PLoS One* 2012; 7: e33360 [PMID: 22432015 DOI: 10.1371/journal.pone.0033360]
- Li M, Yu J, Li Y, Li D, Yan D, Qu Z, Ruan Q. CXCR4 positive bone mesenchymal stem cells migrate to human endothelial cell stimulated by ox-LDL via SDF-1 α /CXCR4 signaling axis. *Exp Mol Pathol* 2010; 88: 250-255 [PMID: 20025867 DOI: 10.1016/j.yexmp.2009.12.001]
- Yu J, Li M, Qu Z, Yan D, Li D, Ruan Q. SDF-1/CXCR4-mediated migration of transplanted bone marrow stromal cells toward areas of heart myocardial infarction through activation of PI3K/Akt. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 55: 496-505 [PMID: 20179608 DOI: 10.1097/FJC.0b013e3181d7a384]
- Davaatseren M, Hwang JT, Park JH, Kim MS, Wang S, Sung MJ. Poly- γ -glutamic acid attenuates angiogenesis and inflammation in experimental colitis. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 982383 [PMID: 23766568 DOI: 10.1155/2013/982383]
- Mitsuyama K, Matsumoto S, Rose-John S, Suzuki A, Hara T, Tomiyasu N, Handa K, Tsuruta O, Funabashi H, Scheller J, Toyonaga A, Sata M. STAT3 activation via interleukin 6 trans-signalling contributes to ileitis in SAMP1/Yit mice. *Gut* 2006; 55: 1263-1269 [PMID: 16682432 DOI: 10.1136/gut.2005.079343]
- Ando Y, Inaba M, Sakaguchi Y, Tsuda M, Quan GK, Omae M, Okazaki K, Ikehara S. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cells facilitate colonic mucosal recovery from 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 826-838 [PMID: 18253953 DOI: 10.1002/ibd.20382]
- Newman R, Cuan N, Hampartzoumian T, Connor SJ, Lloyd AR, Grimm MC. Vasoactive intestinal peptide impairs leucocyte migration but fails to modify experimental murine colitis. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 411-420 [PMID: 15730386 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02673.x]
- Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 87-117 [PMID: 20415588 DOI: 10.1146/annurev-bioeng-070909-105309]
- Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, Xu C, Chen X, Huang Y, Zhu Z, Huang X, Han X, Xie N, Ren G. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Res* 2010; 20: 510-518 [PMID: 20368733 DOI: 10.1038/cr.2010.44]
- Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012; 20: 14-20 [PMID: 22008910 DOI: 10.1038/mt.2011.211]
- Liu H, Liu S, Li Y, Wang X, Xue W, Ge G, Luo X. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury. *PLoS One* 2012; 7: e34608 [PMID: 22511954 DOI: 10.1371/journal.pone.0034608]
- Liang J, Huang W, Yu X, Ashraf A, Wary KK, Xu M, Millard RW, Ashraf M, Wang Y. Suicide gene reveals the myocardial neovascularization role of mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 (MSC(CXCR4)). *PLoS One* 2012; 7: e46158 [PMID: 23029422 DOI: 10.1371/journal.pone.0046158]
- Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 326: 523-531 [PMID: 18448866 DOI: 10.1124/

- jpet.108.137083]
- 18 Ko IK, Kim BG, Awadallah A, Mikulan J, Lin P, Letterio JJ, Dennis JE. Targeting improves MSC treatment of inflammatory bowel disease. *Mol Ther* 2010; 18: 1365-1372 [PMID: 20389289 DOI: 10.1038/mt.2010.54]
- 19 Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut* 2009; 58: 929-939 [PMID: 19136511 DOI: 10.1136/gut.2008.168534]
- 20 Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, Miller L, Guetta E, Zipori D, Kedes LH, Kloner RA, Leor J. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003; 108: 863-868 [PMID: 12900340 DOI: 10.1161/01.CIR.0000084828.50310.6A]
- 21 Schrepfer S, Deuse T, Reichenspurner H, Fischbein MP, Robbins RC, Pelletier MP. Stem cell transplantation: the lung barrier. *Transplant Proc* 2007; 39: 573-576 [PMID: 17362785 DOI: 10.1016/j.transproceed.2006.12.019]
- 22 Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2927-2931 [PMID: 20484021 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2329]
- 23 Zaruba MM, Franz WM. Role of the SDF-1-CXCR4 axis in stem cell-based therapies for ischemic cardiomyopathy. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 321-335 [PMID: 20132055 DOI: 10.1517/14712590903460286]
- 24 Theiss HD, Vallaster M, Rischpler C, Krieg L, Zaruba MM, Brunner S, Vanchev Y, Fischer R, Gröbner M, Huber B, Wollenweber T, Assmann G, Mueller-Hoecker J, Hacker M, Franz WM. Dual stem cell therapy after myocardial infarction acts specifically by enhanced homing via the SDF-1/CXCR4 axis. *Stem Cell Res* 2011; 7: 244-255 [PMID: 21752744 DOI: 10.1016/j.scr.2011.05.003]
- 25 Katsuta T, Lim C, Shimoda K, Shibuta K, Mitra P, Banner BF, Mori M, Barnard GF. Interleukin-8 and SDF1-alpha mRNA expression in colonic biopsies from patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3157-3164 [PMID: 11095335 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03289.x]
- 26 Kortessidis A, Zannettino A, Isenmann S, Shi S, Lapidot T, Gronthos S. Stromal-derived factor-1 promotes the growth, survival, and development of human bone marrow stromal stem cells. *Blood* 2005; 105: 3793-3801 [PMID: 15677562 DOI: 10.1182/blood-2004-11-4349]
- 27 Zhang L, Liu HJ, Li TJ, Yang Y, Guo XL, Wu MC, Rui YC, Wei LX. Lentiviral vector-mediated siRNA knockdown of SR-PSOX inhibits foam cell formation in vitro. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 847-852 [PMID: 18565283 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00823.x]
- 28 Jiang J, Huang L, Yu W, Wu X, Zhou P, Li X. Overexpression of HTRA1 leads to down-regulation of fibronectin and functional changes in RF/6A cells and HUVECs. *PLoS One* 2012; 7: e46115 [PMID: 23056244 DOI: 10.1371/journal.pone.0046115]
- 29 Mokbel AN, El Tookhy OS, Shamaa AA, Rashed LA, Sabry D, El Sayed AM. Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. *BMC Musculoskelet Disord* 2011; 12: 259 [PMID: 22085445 DOI: 10.1186/1471-2474-12-259]
- 30 Valcz G, Krenács T, Sipos F, Leiszter K, Tóth K, Balogh Z, Csizmadia A, Muzes G, Molnár B, Tulassay Z. The role of the bone marrow derived mesenchymal stem cells in colonic epithelial regeneration. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 11-16 [PMID: 20405350 DOI: 10.1007/s12253-010-9262-x]
- 31 Parekkadan B, Upadhyay R, Dunham J, Iwamoto Y, Mizoguchi E, Mizoguchi A, Weissleder R, Yarmush ML. Bone marrow stromal cell transplants prevent experimental enterocolitis and require host CD11b+ splenocytes. *Gastroenterology* 2011; 140: 966-975 [PMID: 20955701 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.013]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



肝脏神经内分泌肿瘤34例

陆中萃, 张秀辉

陆中萃, 张秀辉, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041

陆中萃, 在读硕士, 主要从事肿瘤病理的研究.

作者贡献分布: 本文由陆中萃完成; 张秀辉审核.

通讯作者: 张秀辉, 教授, 主任医师, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院病理科. zhangxiuhui1955@126.com

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-18

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases

Zhong-Cui Lu, Xiu-Hui Zhang

Zhong-Cui Lu, Xiu-Hui Zhang, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiu-Hui Zhang, Professor, Department of Pathology, West China Hospital, 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. zhangxiuhui1955@126.com

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-18

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To investigate the pathological classification, clinicopathological characteristics and prognosis of hepatic neuroendocrine tumors.

METHODS: Thirty-four cases of hepatic neuroendocrine tumors were divided into an primary disease group and a metastatic disease group. Hepatic neuroendocrine tumors were studied by immunohistochemistry and electron microscopy, and their clinicopathological characteristics were analyzed.

RESULTS: Hepatic neuroendocrine tumors could be divided into three groups: neuroendocrine tumor (G1), neuroendocrine tumor (G2) and neuroendocrine carcinoma (G3). There were 1 case of neuroendocrine tumor (G1), 1 case of neuroendocrine tumor (G2) and 2 cases of neuroendocrine carcinoma (G3) in the primary disease group, and the corresponding figures in the metastatic disease group were 3, 15 and 12, respectively.

CONCLUSION: Primary hepatic neuroendocrine tumors are very rare. The diagnosis of primary

hepatic neuroendocrine tumors must eliminate the possibility of metastatic hepatic neuroendocrine tumors. Surgery is an effective treatment modality for hepatic neuroendocrine tumors.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic tumors; Neuroendocrine tumors; Immunohistochemistry

Lu ZC, Zhang XH. Hepatic neuroendocrine tumors: Analysis of 34 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3631-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3631>

摘要

目的: 对肝脏神经内分泌肿瘤进行病理学分级, 探讨其临床病理特点和预后.

方法: 收集34例肝脏神经内分泌肿瘤, 分为原发组和转移组, 应用免疫组织化学方法及透射电镜技术对肿瘤进行观察, 结合文献分析肿瘤的临床病理学特点.

结果: 原发组神经内分泌瘤NET1级(G1级)1例, 神经内分泌瘤NET2级(G2)1例, 神经内分泌癌NEC(G3)2例; 转移组NET1级(G1级)3例, NET2级(G2)15例, NEC(G3)12例.

结论: 肝脏神经内分泌肿瘤分为原发性神经内分泌肿瘤和转移性神经内分泌肿瘤, 肝脏原发性神经内分泌肿瘤非常罕见, 需要完全排除转移性的肝脏神经内分泌肿瘤才能诊断为肝脏原发性神经内分泌肿瘤. 手术是治疗肝脏神经内分泌肿瘤的有效手段.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝肿瘤; 神经内分泌肿瘤; 免疫组织化学

核心提示: 本文论述了肝脏神经内分泌肿瘤的临床病理特点、治疗和预后, 发现肝脏神经内分泌肿瘤患者最常见的临床表现是腹痛、腹部包块,

■背景资料

神经内分泌肿瘤是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤, 可发生于全身许多器官, 如胃肠道、胰腺、胆囊、肺、肝脏等. 目前肝脏的神经内分泌肿瘤尚无独特的病理学分级标准, 本文参照WHO 2010消化系统神经内分泌肿瘤的临床病理学分类标准和中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见对肝脏神经内分泌肿瘤进行病理分级.

■同行评议者

王鲁平, 主任医师, 北京军区总医院病理科

■ 研究前沿

胃肠道的神经内分泌肿瘤经常转移到肝脏,而肝脏原发性神经内分泌肿瘤十分罕见。近年来的研究热点是肝脏原发性神经内分泌肿瘤的临床病理学特点。不过肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断较困难,寻找敏感性和特异性高的方法来确诊肝脏原发性神经内分泌肿瘤是目前需要解决的问题。

手术是治疗肝脏神经内分泌肿瘤的有效手段,而患者的预后与年龄、分级有关。

陆中萃, 张秀辉. 肝脏神经内分泌肿瘤34例. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3631-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3631.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3631>

0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasms)是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤^[1,2]。随着免疫组织化学技术和电镜观察在肿瘤病理诊断上的广泛应用,已发现神经内分泌肿瘤不仅见于传统的内分泌器官,也见于其他非内分泌器官,如胃肠道、胰腺、胆囊、肺等。据报道,胃肠道的神经内分泌肿瘤的发生率依次为阑尾38%、小肠29%、结肠13%、胃12%、直肠8%^[3]。胃肠道的神经内分泌肿瘤经常转移至肝脏,而肝脏原发性神经内分泌肿瘤十分罕见^[4-6]。1958年Edmondson报道了第1例肝脏原发性神经内分泌肿瘤,目前文献报道真正肝脏原发性神经内分泌肿瘤大约100例^[7,8]。本文对肝脏神经内分泌肿瘤进行分析,结合文献,探讨其临床表现、病理学特点、治疗方法及预后。

1 材料和方法

1.1 材料 本文共收集2007-2012年华西医院病理科诊断为肝脏神经内分泌肿瘤的病例45例,临床资料完整的34例。根据临床资料及病理特点,30例考虑为肝脏转移性神经内分泌肿瘤,归入转移组;其中6例为超声引导下经皮细针穿刺活检标本,9例为手术冰冻肝脏包块活检标本,15例为手术切除标本。原发组4例均为手术切除标本,通过全身体格检查、胸片、腹部及泌尿系B超、胃肠镜、腹部CT、MRI等检查均未发现其他部位(脏器)存在肿瘤,随访也未发现原发病灶,考虑为肝脏原发性神经内分泌肿瘤。CD56、Syn、CgA、CK18及CD10购自北京中杉金桥生物技术有限公司,GPC3和Ki-67购自基因科技(上海)有限公司;EnVision试剂盒购自丹麦Dako公司。

1.2 方法 采用免疫组织化学EnVision法染色,实验步骤按试剂盒说明方法操作。各组抗体均设阴性和阳性对照。电镜标本经2.5%戊二醛固定,树脂包埋,透射电镜下观察。根据欧洲神经

内分泌肿瘤协会共识、WHO 2010消化系统神经内分泌肿瘤的临床病理学分类标准和中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见,本文将肝脏神经内分泌肿瘤分为两类:第一类为神经内分泌瘤(neuroendocrine tumor, NET),包括NET1级(类癌, carcinoid)和NET2级;第二类为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)^[1,9](表1)。

免疫组织化学阳性结果判断CgA、Syn和CK18阳性表达为细胞浆出现棕黄色颗粒^[10,11],CD56阳性表达在细胞膜^[12],CD10和GPC3阳性表达定位在细胞浆和细胞膜^[13,14]。依据陈远钦等^[15]的方法进行结果判断,阳性细胞评分标准:显微镜下随机取5个高倍镜视野,阳性细胞数<5%为0分,5%-25%为1分,26%-50%为2分,>50%为3分;染色程度评分标准:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;免疫组织化学结果为上述两项得分的乘积,0分为阴性(-),1-2分为弱阳性(+),3-5分为阳性(++),6分以上为强阳性(+++)。

2 结果

2.1 临床表现 原发组4例,女性2例,男性2例,发病年龄7-52岁。转移组30例,女性17例,男性13例,平均年龄52岁(22-75岁)。原发组4例患者均无乙型肝炎病毒感染史。转移组3例患者有乙型肝炎病毒感染史。原发组4例均因腹部包块就诊,其中2例出现腹痛症状,1例出现体质量减轻,病程(从出现临床症状或体征到就诊的时间)5-20 d。转移组中20例患者出现临床症状;10例无明显临床症状,因腹部包块就诊(表2)。30例患者中,病程最长的为10年,最短的为1 d。

2.2 实验室检查 原发组中,3例患者作了血清肿瘤标志物检测,其中1例CA-125升高。转移组中27例患者作了血清肿瘤标志物检测,其中1例癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA-125、CA19-9均升高;3例CEA、CA19-9升高;2例CA-125、CA19-9升高;5例CA19-9升高;4例CA-125升高;1例CEA升高。

2.3 影像学检查

2.3.1 B超检查: 原发组1例左肝内查见单个稍强回声团;3例右肝查见单个混合回声团;转移组有23例行腹部B超检查,其中1例腹部B超示肝脏形态未见异常,实质回声稍增强,欠均匀;3例胰腺体尾部查见弱回声团,肝脏未见异常;11例

表 1 肝脏神经内分泌肿瘤的病理学分级标准

NET1级(G1)	低度恶性, 位于肝脏内, 没有血管侵犯, 没有坏死<2核分裂象/10 HPF (1个HPF = 2 mm ²), 和Ki-67指数<2%
NET2级(G2)	中度恶性, 有血管侵犯, 可见局灶坏死2-20个核分裂/10 HPF, 和Ki-67指数 3%-20%
NEC(G3)	高度恶性, 侵犯邻近脏器和/或转移, 核异型性明显, 可见多灶坏死>20个核分裂象/10 HPF, 和Ki-67指数>20%

表 2 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的临床表现

症状	n	百分比(%)
腹痛	17	56.7
腹泻	2	0.1
腹部包块	20	66.7
黄疸	3	0.1
呕吐	2	0.1
体质量减轻	8	26.7

左、右肝内均查见多个弱回声团; 1例肝左内叶及右前叶查见稍强回声团; 2例右肝内查见弱回声团; 4例左肝查见等回声团; 1例肝方叶查见单个稍强回声结节。

2.3.2 上腹部CT检查: 原发组4例平扫期提示肝实质中低密度肿块, 动脉期示肿块明显强化, 门静脉期肿块强化程度相对降低。转移组有22例行上腹部CT检查, 其中19例示肝内低密度占位; 1例示肝门区见小片状异常强化灶; 2例患者上腹部CT提示胰腺实性占位, 肝脏未见异常。

2.3.3 MRI检查: 原发组有2例行MRI检查, 转移组有10例行MRI检查, 均示肝内可见稍长T1/T2信号影, 增强动脉期呈不均匀强化, 门脉期强化减低。

2.4 病理学特点

2.4.1 大体检查: 原发组4例患者中, 1例肿瘤位于肝左叶, 3例肿瘤位于肝右叶, 4例均为单发肿块。转移组30例患者中, 有12例肝左、右叶均发现肿瘤, 5例肿瘤位于肝右叶, 11例肿瘤位于肝左叶, 2例肿瘤位于肝方叶。有11例为单发肿块, 肿瘤的体积从1.2 cm×1.0 cm×0.7 cm到22.2 cm×16.8 cm×10.5 cm, 其中9例肿瘤与周围肝组织分界清楚; 2例肿瘤与周围肝组织分界不清。19例为多发肿块, 直径0.5-13.4 cm, 平均3 cm, 其中12例肿瘤与周围肝组织分界清楚; 7例肿瘤与周围肝组织分界不清。

2.4.2 光镜检查: 原发组与转移组的组织学特点类似, 均具有神经内分泌肿瘤的共同特点, 肿瘤细胞呈圆形、立方形或短梭形, 大小一致, 排列呈梁柱状、实体巢团状或腺管状, 间质血管丰

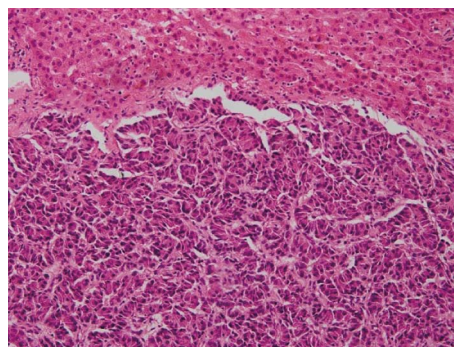


图 1 肝脏神经内分泌肿瘤NET2级: 肿瘤细胞呈腺样排列 (HE × 200)。

富。原发组中1例为NET1级(G1), 1例为NET2级(G2), 2例为NEC(G3)(表3)。转移组中3例为NET1级(G1), 肿瘤细胞呈腺管状或梁柱状排列, 未见出血、坏死, 核分裂<2个/10 HPF。15例为NET2级(G2), 其中7例肿瘤细胞排列呈腺管状或腺样(图1), 4例肿瘤细胞呈巢团状排列, 局灶区均可见坏死, 无出血, 核分裂5-18个/10 HPF; 4例肿瘤细胞呈梁柱状排列, 核分裂10-15个/10 HPF, 其中2例为穿刺活检标本, 未见出血、坏死, 2例局灶区可见坏死、出血。12例为NEC(G3), 肿瘤细胞排列呈粗梁柱状或实体巢团状, 核分裂>20个/10 HPF, 其中2例为穿刺活检标本, 未见出血、坏死, 其余10例均可见明显出血、坏死。

2.4.3 电镜检查: 原发组4例中有1例行电镜检查, 转移组有6例行电镜检查。肿瘤细胞均呈多边形, 边界清楚, 片状排列, 细胞质多局灶性溶解, 细胞器较少, 细胞核为圆形或椭圆形, 可见核膜内陷, 核内染色质较少, 多集中在核膜周围; 原发组1例在细胞质中可见具有特征性的神经内分泌颗粒(图2), 转移组3例可见神经内分泌颗粒。

2.4.4 免疫组织化学: 原发组4例Syn、CgA均呈胞浆阳性表达(表4)。转移组15例表达Syn、CgA、CD56等多种神经内分泌标记; 15例表达2种神经内分泌标记(图3, 表5)。

2.5 肝脏转移性神经内分泌肿瘤的特点 21例发现肿瘤的原发部位, 最常见的部位为胰腺(11例), 其余依次为肺(4例)、胆囊(2例)、十二指肠(1例)、宫颈(1例)、胆总管(1例)和胸腺(1例)。其中

■相关报道

张文书等对肝脏原发性神经内分泌肿瘤和转移性神经内分泌肿瘤进行分析, 发现肝脏原发性神经内分泌肿瘤多为单发肿块, 好发于肝右叶; 而肝脏转移性神经内分泌肿瘤多表现为肝内的多发肿块。肿瘤发生的部位、肿瘤的个数对鉴别原发性和转移性神经内分泌肿瘤有一定参考价值。

■创新盘点

本文分析肝脏神经内分泌肿瘤的病理特点,发现原发肿瘤与肝转移灶的组织学构象类似,其肿瘤分级相同;肿瘤分级越高, Syn、CgA等神经内分泌标记的表达越弱。近来研究发现 Syn、CgA对诊断肝脏神经内分泌肿瘤更具特异性。

表 3 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的病理学特点

序号	肿瘤位置	肿瘤数目	肿瘤大小(cm)	肿瘤界限	出血	坏死	组织构象	细胞学形态	核分裂	肿瘤分级
1	肝右叶	1	9×5×5	边界清楚	明显	有	梁柱状或巢团状	立方形	13个/10 HPF	G2
2	肝右叶	1	12×9×7	边界欠清	无	无	腺管状	多边形	<2个/10 HPF	G1
3	肝左叶	1	2×2×1.5	边界清楚	无	有	巢团状或梁柱状	圆形或短梭形	>20个/10 HPF	G3
4	肝右叶	1	9×7×3.5	边界清楚	有	明显	巢团状	圆形或短梭形	>20个/10 HPF	G3

表 4 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的免疫组织化学结果

序号	Syn	CgA	CD56	CD10	GPC3	CK18	Ki-67
1	++	++	++	-	-	+++	+, 5%
2	++	++	-	-	-	+++	+, 1%-2%
3	+	++	+++	-	-	ND	+, 60%
4	++	+	+	-	-	ND	+, 40%-50%

+: 弱阳性; ++: 阳性; +++: 强阳性; -: 阴性; ND: 未做。

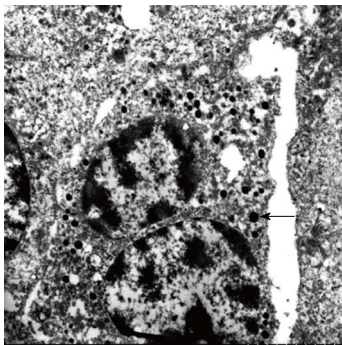


图 2 神经内分泌颗粒: 在肿瘤细胞质中可见直径100-200 nm的神经内分泌颗粒所示(× 200000)。

2例在原发肿瘤切除术后5年出现肝转移; 2例在原发肿瘤切除术后1年出现肝转移; 17例为原发肿瘤与肝转移灶同时被发现, 其中9例原发病灶与肝脏转移灶的组织学构象类似, 其肿瘤分级相同。

2.6 治疗及随访 原发组4例患者均行肿瘤切除术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗(表6)。转移组30例根据治疗方法不同, 分为6组: (1)手术组: 11例行肿瘤切除术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗, 其中1例失访; 2例神经内分泌癌患者(G3)因肿瘤导致的恶病质及多器官功能衰竭而死亡; 8例术后随访2年未见肿瘤复发或转移。手术组患者的平均生存时间为35 mo;

(2)肿瘤切除术+射频消融组: 1例失访; 2例术后随访2年未见肿瘤复发或转移, 从出现临床症状到目前生存时间为34-66 mo; (3)肿瘤切除术+化疗组: 1例神经内分泌癌患者(G3)死亡, 生存时间为48 mo; (4)肝活检+肝动脉化疗栓塞组: 2例行肝穿活检术, 1例行剖腹肝脏包块活检术, 术后均给予肝动脉化疗栓塞治疗, 1例NET2级(G2)和1例NEC(G3)患者死亡, 另1例随访2年肿瘤未见明显增大, 平均生存时间为34 mo; (5)肝脏穿刺活检+化疗组: 1例NET2级(G2)患者失访, 1例NET2级(G2)患者死亡, 1例患者随访2年肿瘤未见明显增大, 平均生存时间为65 mo; (6)肝活检组: 8例行剖腹肝脏包块活检术, 1例行肝穿活检术, 术前、术后均未行放射治疗、化学药物治疗及其他免疫治疗, 其中7例失访, 2例存活, 目前生存时间均为24 mo(表7, 8)。

3 讨论

3.1 临床病理特点 文献报道肝脏原发性神经内分泌肿瘤可出现腹痛、腹部包块、黄疸、恶心、呕吐、乏力、体质量减轻等症状^[16,17]。本文发现肝脏原发性与转移性神经内分泌肿瘤的临床表现类似, 以腹部包块、腹痛最为常见, 这与文献报道相符。肝脏原发性与继发性神经内分泌肿瘤均具有神经内分泌肿瘤的组织形态学特点, 免疫组织化学染色显示肿瘤细胞表达CgA、

■应用要点
肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断必须符合两个条件：首先，必须具有神经内分泌肿瘤的病理特点；其次需完全排除肝外神经内分泌肿瘤转移至肝脏。可以通过长期随访、病理学特点和影像学检查及实验室检查来排除转移性肝脏神经内分泌肿瘤。

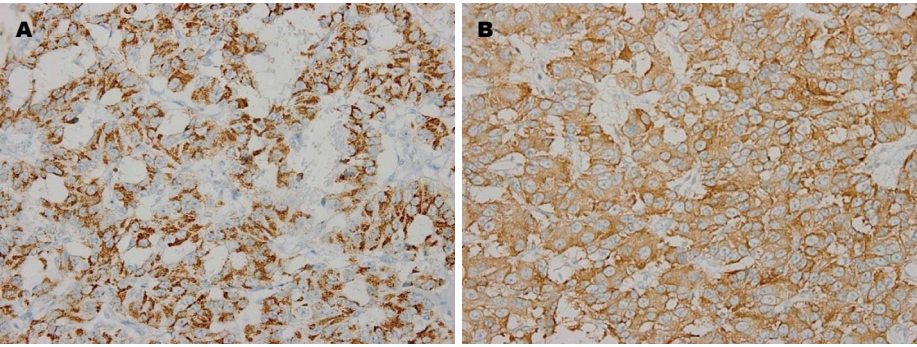


图 3 CgA和Syn在NET2级肿瘤细胞中的表达(IHC×400). A: CgA; B: Syn.

表 5 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的免疫组织化学结果 (n)

肿瘤分级	Syn				CgA				CD56				Ki-67		
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	<2%	3%–20%	>20%
G1	0	1	0	2	0	1	2	0	0	1	1	1	3	0	0
G2	3	2	5	5	2	0	7	6	0	4	7	4	0	15	0
G3	2	4	5	1	5	4	2	1	3	4	4	1	0	0	12

+: 弱阳性; ++: 阳性; +++: 强阳性; -: 阴性.

表 6 肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者的治疗方法与随访结果

患者序号	患者年龄(岁)	患者病程(mo)	肿瘤分型	治疗方法	随访结果	目前生存时间(mo)
1	47	<1	G2	肿瘤切除术	存活	46
2	41	<1	G1	肿瘤切除术	存活	19
3	52	<1	G3	肿瘤切除术	死亡	4
4	7	<1	G3	肿瘤切除术	存活	12

表 7 肝脏神经内分泌肿瘤患者的年龄与预后的关系 (n)

年龄(岁)	随访结果(生存)	随访结果(死亡)	随访结果(失访)	合计
20–39	1	1	3	5
40–59	9	1	5	15
60–79	4	4	2	10
合计	14	6	10	30

Syn、CD56、NSE等广谱性神经内分泌细胞标志物。近来研究显示CgA和Syn对肝脏神经内分泌肿瘤的病理诊断更具特异性^[10,18]。本文发现肿瘤分级越高,神经内分泌标记的表达越弱。

3.2 诊断与鉴别诊断 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊断必须满足两个条件,首先,必须病理诊断为神经内分泌肿瘤;其次需完全排除肝外神经内分泌肿瘤转移至肝脏。肝脏原发性神经内分泌肿瘤与转移性神经内分泌肿瘤的区别要点

包括: (1)长期随访: 张文书等^[19]发现初诊为肝脏原发性神经内分泌肿瘤的患者在4年后发现空肠的原发肿瘤,故长期随访是诊断肝脏原发性神经内分泌肿瘤的必要手段; (2)病理学特点: 张文书等^[19]认为肿瘤发生的部位、肿瘤的个数对鉴别原发性和转移性神经内分泌肿瘤有一定的参考价值。肝脏原发性神经内分泌肿瘤好发于肝右叶,以单发肿块多见,而肝脏转移性神经内分泌肿瘤多表现为肝内的多发肿块^[19,20]。本文发

■同行评价

本文对34例肝原发及转移神经内分泌肿瘤进行了临床病理分析,病例数较多,有预后随访,对临床及病理医师有一定参考价值。

表 8 肝脏转移性神经内分泌肿瘤患者的分级与预后 (n)

肿瘤分级	随访结果(生存)	随访结果(死亡)	随访结果(失访)	合计
G1	2	0	1	3
G2	8	2	5	15
G3	4	4	4	12
合计	14	6	10	30

现与报道相符; (3)影像学检查: 目前诊断肝脏原发性神经内分泌肿瘤常用的检查手段包括腹部B超、CT及MRI检查等。肝脏原发性神经内分泌肿瘤的影像学表现缺乏特异性, 难以与肝脏转移性神经内分泌肿瘤鉴别^[19,21]。李晓琼等^[22]认为用影像学方法查找肝内的转移灶和肝外原发病灶对诊断肝脏转移性神经内分泌肿瘤有意义。Yalav等^[23]认为奥曲肽闪烁扫描技术有助于查找神经内分泌肿瘤的发病部位; (4)实验室检查: 杨晓鸥等^[24]认为胃肠道来源的神经内分泌肿瘤, 已发生转移患者的血浆CgA明显高于未转移患者。而且监测患者血浆CgA水平, 对肝脏神经内分泌肿瘤治疗后复发有临床意义^[23]。本文收集的34例病例均具有神经内分泌肿瘤的病理特点, 4例通过全身体格检查、胸片、腹部及泌尿系B超、腹部CT等检查和随访均未发现其他部位(脏器)存在肿瘤, 3例行胃肠镜检查未发现原发病灶, 1例年龄较小(7岁)未行胃肠镜检查, 其肿瘤位于肝右叶, 结合文献报道的肝脏原发性神经内分泌肿瘤的特点, 归入原发组。转移组30例中21例发现了肿瘤的原发部位; 9例虽未发现原发病灶, 仍归入转移组, 其原因为: (1)9例中2例肿瘤标志物CA19-9、CA125均升高, 2例CEA、CA19-9均升高, 2例CA125升高, 2例CA19-9升高, 1例CEA升高, 姚辉盛等^[25]认为胃癌、结直肠癌患者血清CA19-9、CA125、CEA均可升高, 故尚不能排除胃肠道肿瘤转移至肝脏; (2)9例中有6例为多发肿块, 肿瘤位于肝左、右叶, 3例为单发肿块, 肿瘤位于肝左叶或肝方叶, 2例失访, 7例随访时间为1-2年, 时间较短, 结合文献报道肝脏转移性神经内分泌肿瘤的特点^[19], 考虑转移性神经内分泌肿瘤可能性大, 故目前虽未发现原发病灶, 仍诊断为转移性神经内分泌肿瘤。

肝脏神经内分泌肿瘤需与肝细胞癌及胆管细胞癌相鉴别, 典型的肝细胞癌排列构象多样, 多为梁柱状, 在小梁间有不规则血窦, 常有肝硬化的背景。胆管细胞癌的间质非血窦而是增生的纤维组织。除了组织形态, 最主要靠免疫组织化

学染色予以区别。肝脏神经内分泌肿瘤表达神经内分泌标记, 而肝细胞癌和胆管细胞癌则不表达神经内分泌标记。肝细胞癌可表达AFP、Hepatocyte、GPC-3等肝细胞标志物, 胆管细胞癌通常表达胆管上皮标志物如细胞角蛋白19(Cytokeratin 19, CK19)、CK7、黏蛋白(muc-1)、muc-2及CEA, 而肝脏神经内分泌肿瘤则均不表达这些标志物。

3.3 预后 肝脏神经内分泌肿瘤的预后与以下因素有关: (1)治疗方法: 有报道肝脏类癌术后5年的复发率为18%, 手术后5年的生存率为74%-78%。尽管肝脏神经内分泌肿瘤可出现术后复发, 肝切除术后患者的生存率还是令人满意的^[26]。本文随访结果证明手术治疗对肝脏原发性神经内分泌肿瘤与转移性神经内分泌肿瘤均有疗效。如果肝脏神经内分泌肿瘤同时发生于肝左、右叶, 并且肿块巨大或为多发性肿块, 不能实施肝切除术者, 可行肝脏移植手术。肝移植术对原发性和转移性的肝脏神经内分泌肿瘤都有疗效^[27,28]。其他的治疗方法有肝动脉化疗栓塞及射频消融治疗^[29,30]。目前研究, 化学治疗对肝脏神经内分泌肿瘤患者弊大于利, 不推荐常规应用^[31]; (2)患者年龄: 本文提示肝脏神经内分泌肿瘤的预后与患者年龄有关, 患者年龄越大, 预后越差; (3)肿瘤的分级: 本文显示肝脏神经内分泌肿瘤的分级越高, 预后越差。文献报道肝脏原发性神经内分泌肿瘤较肝脏转移性神经内分泌肿瘤及原发性肝细胞癌预后好^[32]。本文收集肝脏原发性神经内分泌肿瘤的例数少, 转移性神经内分泌肿瘤患者的随访资料不齐全, 影响生存率的统计, 尚不能证实肝脏原发性神经内分泌肿瘤患者预后较好。有待进一步扩大样本量, 深入研究影响肝脏神经内分泌肿瘤的预后因素。

4 参考文献

- 1 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见. 中华病理学杂志 2011; 40: 257-262
- 2 朱雄增. 胃肠胰神经内分泌肿瘤新分类的临床意义. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 12-14

- 3 Cerwenka H. Neuroendocrine liver metastases: contributions of endoscopy and surgery to primary tumor search. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1009-1014 [PMID: 22416174 DOI: 10.3748/wjg.v18.i10.1009]
- 4 Gravante G, De Liguori Carino N, Overton J, Manzia TM, Orlando G. Primary carcinoids of the liver: a review of symptoms, diagnosis and treatments. *Dig Surg* 2008; 25: 364-368 [PMID: 18984960 DOI: 10.1159/000167021]
- 5 Lin CW, Lai CH, Hsu CC, Hsu CT, Hsieh PM, Hung KC, Chen YS. Primary hepatic carcinoid tumor: a case report and review of the literature. *Cases J* 2009; 2: 90 [PMID: 19173727 DOI: 10.1186/1757-1626-2-90]
- 6 Touloumis Z, Delis SG, Triantopoulou C, Giannakou N, Avgerinos C, Derveniz C. Primary hepatic carcinoid; a diagnostic dilemma: a case report. *Cases J* 2008; 1: 314 [PMID: 19014620 DOI: 10.1186/1757-1626-1-314]
- 7 Fenoglio LM, Severini S, Ferrigno D, Gollè G, Serraino C, Bracco C, Castagna E, Brignone C, Pomerio F, Migliore E, David E, Salizzoni M. Primary hepatic carcinoid: a case report and literature review. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2418-2422 [PMID: 19452590 DOI: 10.3748/wjg.15.2418]
- 8 Shetty PK, Baliga SV, Balaiah K, Gnana PS. Primary hepatic neuroendocrine tumor: an unusual cystic presentation. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 760-762 [PMID: 21045409 DOI: 10.4103/0377-4929.72078.]
- 9 杨宏, 张翠英. 胃肠胰神经内分泌肿瘤诊治进展. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 2040-2043
- 10 张宝艳, 李向红, 崔海宏. CD56、嗜铬蛋白A和突触素在小细胞肺癌中的表达及其临床诊断价值. 诊断病理学杂志 2009; 16: 340-342
- 11 Rao MS, Khan AA, Parveen N, Habeeb MA, Habibullah CM, Pande G. Characterization of hepatic progenitors from human fetal liver during second trimester. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5730-5737 [PMID: 18837092 DOI: 10.3748/wjg.14.5730]
- 12 高福平, 魏谨. Syn及CD56在肺小细胞癌中的表达及意义. 临床肺科杂志 2012; 17: 900-901
- 13 Wu Y, Li ZW, Li JY. Phenotypic Classification of Well-Differentiated Gastric Adenocarcinoma. *Chin J Cancer Res* 2009; 21: 278-289
- 14 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 289-294 [PMID: 21669573]
- 15 陈远钦, 邱建龙, 张永辉, 陈婷婷, 郑素琼. GPC3Hep-Par-1在肝细胞癌中的表达及其价值. 实用癌症杂志 2012; 27: 353-355
- 16 Gao J, Hu Z, Wu J, Bai L, Chai X. Primary hepatic carcinoid tumor. *World J Surg Oncol* 2011; 9: 151 [PMID: 22099501 DOI: 10.1186/1477-7819-9-151]
- 17 Schwartz G, Colanta A, Gaetz H, Olichney J, Attiye F. Primary carcinoid tumors of the liver. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 91 [PMID: 18727836 DOI: 10.1186/1477-7819-6-91]
- 18 盛伟琪. 胃肠胰神经内分泌肿瘤病理诊断的规范和进展. 中国癌症杂志 2013; 23: 401-407
- 19 张文书, 赵婧, 纪元, 杨博, 陈伶俐, 谭云山, 宿杰阿克苏, 朱雄增. 肝原发性与转移性神经内分泌肿瘤的临床病理分析. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 161-165
- 20 Jia C, Zhang Y, Xu J, Sun K. Experience in primary hepatic neuroendocrine tumor. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 546-551 [PMID: 23161300 DOI: 10.4318/tjg.2012.0370]
- 21 朱世华, 张云山, 贺声, 张晶. 原发性肝、胆囊神经内分泌癌的影像学表现. 中华放射学杂志 2003; 37: 1143-1147
- 22 李晓琼, 张华, 李健丁. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的研究现状. 世界华人消化杂志 2013; 21: 984-989
- 23 Yalav O, Ülkü A, Akçam TA, Demiryürek H, Doran F. Primary hepatic neuroendocrine tumor: Five cases with different preoperative diagnoses. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 272-278 [PMID: 22798119 DOI: 10.4318/tjg.2012.0465]
- 24 杨晓鸥, 李景南, 钱家鸣, 杨红, 陈蕾, 卢琳. 血浆嗜铬粒蛋白A对多种神经内分泌肿瘤的诊断价值. 中华内科杂志 2011; 50: 124-127
- 25 姚辉盛, 翁克丽. 肿瘤患者血清中癌胚抗原癌相关糖抗原125和199的检测结果分析. 中国肿瘤临床与康复 2012; 19: 244-246
- 26 Huang YQ, Xu F, Yang JM, Huang B. Primary hepatic neuroendocrine carcinoma: clinical analysis of 11 cases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 44-48 [PMID: 20133228]
- 27 Alekseev D, Goralczyk A, Lorf T, Ramadori G, Obed A. Ten years survival with excellent outcome after living donor liver transplantation from 70 years old donor for primary hepatic neuroendocrine carcinoma: Case report. *Int J Surg Case Rep* 2012; 3: 34-36 [PMID: 22288038 DOI: 10.1016/j.ijscr.2011.08.016]
- 28 靳曙光, 严律南. 应用肝移植治疗神经内分泌肿瘤肝转移的新进展. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 449-451
- 29 Kong W, Qiu Y, Zhang W, Jun C, Zhu X, Qiu J, Ding Y. Diagnosis of primary hepatic carcinoid tumor: report of one case. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2008; 7: 673-P675
- 30 Komatsuda T, Ishida H, Furukawa K, Miyauchi T, Heianna J. Primary carcinoid tumor of the liver: report of a case with an emphasis on contrast-enhanced ultrasonographic findings. *J Clin Ultrasound* 2005; 33: 302-304 [PMID: 16134160]
- 31 Glazer ES, Tseng JF, Al-Refaie W, Solorzano CC, Liu P, Willborn KA, Abdalla EK, Vauthey JN, Curley SA. Long-term survival after surgical management of neuroendocrine hepatic metastases. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 427-433 [PMID: 20662794 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2010.00198.x]
- 32 Oh YH, Kang GH, Kim OJ. Primary hepatic carcinoid tumor with a paranuclear clear zone: a case report. *J Korean Med Sci* 1998; 13: 317-320 [PMID: 9681813]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青

■背景资料

胆囊结石是一种常见的多因素疾病, 其发病机制仍不清楚。有报道认为华支睾吸虫感染与胆囊结石密切相关, 但具体机制有待研究。在胆囊结石中发现华支睾吸虫卵提示虫卵可能在结石形成过程中起到一定作用。

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青, 广州市番禺区胆囊疾病研究所 广东省广州市 511430

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青, 广州市南沙区第六人民医院 广东省广州市 511430

乔铁, 副主任医师, 主要从事胆道疾病和胆道微创外科的研究。

作者贡献分布: 本文由乔铁构思设计; 罗小兵完成写作; 马瑞红、郑培明、罗振亮及杨柳青完成实验与数据收集。

通讯作者: 乔铁, 副主任医师, 511430, 广东省广州市番禺区大石街岗东路88号, 广州市番禺区胆囊疾病研究所。fqj1958@163.com
电话: 020-84784457

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2013-10-04

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-28

Relationship between morphological changes and survival status of *Clonorchis sinensis* eggs and gallstone formation

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang, Institute of Gallbladder Diseases of Panyu District, Guangzhou 511430, Guangdong Province, China

Tie Qiao, Xiao-Bing Luo, Rui-Hong Ma, Pei-Ming Zheng, Zhen-Liang Luo, Liu-Qing Yang, the Sixth People's Hospital of Nansha District, Guangzhou 511470, Guangdong Province, China

Correspondence to: Tie Qiao, Associate Chief Physician, Institute of Gallbladder Diseases of Panyu District, 88 Gangdong Road, Dashi Street, Fanyu District, Guangzhou 511430, Guangdong Province, China. fqj1958@163.com

Received: 2013-08-23 Revised: 2013-10-04

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To explore the relationship between *Clonorchis sinensis* (*C. sinensis*) infection and gallstone formation by observing the morphology and survival status of *C. sinensis* eggs in gallbladder bile, biliary sludge and gallstones from gallstone patients with *C. sinensis* infection.

METHODS: Twenty gallstone patients with *C. sinensis* infection were enrolled in this study. Their gallbladder bile, biliary sludge and gallbladder stones were collected to observe the

morphology of *C. sinensis* eggs using optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM). Von Kossa staining and X-ray energy dispersive spectroscopy were used to analyze the calcium content on the surface of eggs and the substance surrounding them. Trypan blue staining was used for evaluating the survival rate of eggs.

RESULTS: In gallbladder bile, 88.3% of *C. sinensis* eggs had typical morphology, while 56.7% of eggs in biliary sludge and 91.5% in stones were deformed (including changes in shape and size, egg cover loss, invisible internal miracidia and adhesion bilirubin on the surface or in their surroundings). Under SEM, egg shell showed an uneven texture shape, and its surface and surroundings were adhered with mucus-like substances in varying degrees. The calcium content of egg surface and surroundings gradually increased from the bile, biliary sludge to stones. The survival rates of eggs in bile, biliary sludge and stones were 86.6%, 42.1% and 11.5%, respectively.

CONCLUSION: In patients infected with *C. sinensis*, *C. sinensis* eggs can remain in the gallbladder by their uneven texture-like egg shell and mucus-like substance from the biliary tract. Eggs can be further deformed, degenerated, and even calcified to nucleation, resulting in the formation of biliary sludge and participating in gallstone formation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gallstones; Biliary sludge; Bile; *Clonorchis sinensis*; Morphology; Calcification

Qiao T, Luo XB, Ma RH, Zheng PM, Luo ZL, Yang LQ. Relationship between morphological changes and survival status of *Clonorchis sinensis* eggs and gallstone formation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3638-3646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3638>

■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科; 李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

摘要

目的: 观察胆囊结石合并华支睾吸虫感染患者的胆囊胆汁、胆泥及结石中的华支睾吸虫卵形态和存活状况, 探讨华支睾吸虫感染与胆囊结石的关系。

方法: 选取20例胆囊结石合并华支睾吸虫感染患者的胆囊胆汁、胆泥及结石标本, 行光学显微镜、扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)观察其中的华支睾吸虫卵形态; 进一步用Von Kossa染色和X射线能谱仪分析虫卵表面及其周围物质的钙盐含量、台盼蓝(Trypan blue)染色观察虫卵的存活情况。

结果: (1)胆汁中88.3%的虫卵具有典型形态, 而胆泥中56.7%的虫卵和结石中91.5%的虫卵出现变形(包括外形、大小改变, 卵盖丢失、卵内毛蚴看不清、表面或四周吸附胆红素); 电镜下, 卵壳为凹凸不平的纹理状结构, 表面和周围不同程度黏附有黏液样物质; (2)从胆汁、胆泥到结石, 虫卵表面及其周围物质的钙盐含量逐步增多; (3)胆汁、胆泥和结石中虫卵的存活率分别是86.6%、42.1%和11.5%。

结论: 人体感染华支睾吸虫后, 虫卵可通过卵壳的纹理状结构和胆道的黏液样物质储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核, 形成胆泥, 进而参与形成胆囊结石。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆囊结石; 胆泥; 胆汁; 华支睾吸虫; 形态; 钙化

核心提示: 人体感染华支睾吸虫后, 华支睾吸虫卵可通过表面的纹理状结构和胆道的黏液样物质较长时间储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核, 进而参与形成胆囊结石。

乔铁, 罗小兵, 马瑞红, 郑培明, 罗振亮, 杨柳青. 华支睾吸虫卵的形态变化、存活状况与胆囊结石形成的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3638-3646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3638>

0 引言

华支睾吸虫病是由华支睾吸虫寄生在人体的肝胆管内所引起的以肝胆病变为主的一种人兽共患性寄生虫病, 人群主要通过生食或半生食含有华支睾吸虫囊蚴的淡水鱼虾感染此病^[1-3]。据报道, 全球约有3500万例感染该病, 而中国约有

1500万例, 广东省是主要流行区之一, 感染率达16.42%^[4-6]。

研究表明, 华支睾吸虫成虫可造成人体胆道的损伤和局部炎症、纤维化, 导致胆管炎、胆囊炎、胆管结石、甚至诱发胆管上皮癌、肝细胞癌^[7-9]。胆囊结石与华支睾吸虫感染的密切关系已有报道^[10,11], 但其致病机制尚不明确。本实验室前期研究发现, 在华支睾吸虫感染流行区, 部分胆囊结石患者的胆囊结石内存在虫卵^[12], 提示华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中有一定作用。为了了解华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中的作用, 我们对比观察了胆囊胆汁、胆囊胆泥和结石中的华支睾吸虫卵的形态、存活状况及其与周围物质的结构关系。

1 材料和方法

1.1 材料 20例胆囊结石患者来自于2011-05/2011-11间广州市南沙区第六人民医院普外科住院部, 年龄32-61岁, 男性14例, 女性6例, 均为广州市户籍。所有患者有食用或接触鱼/虾生史, 血清华支睾吸虫IgG抗体(EASE-MEDTREND, USA)均为阳性, 胆囊胆汁、胆泥和结石中均同时检见华支睾吸虫卵。

1.2 方法

1.2.1 标本的获取: 经过医院伦理委员会的审核并经患者知情同意, 在CHiAO硬质胆囊镜取石保胆术中, 切开胆囊壁底部后, 50 mL无菌注射器抽取所有胆囊胆汁, 装于无菌容器中送检。胆囊胆泥于术中使用CHiAO胆道镜专用的泥沙样结石吸取箱获取, 结石标本为术中直接取得。个别胆囊胆汁中混有少量胆泥, 仍视为胆囊胆汁。所有标本获取后于2 h内送检, 并于送达后24 h内完成分析。

1.2.2 标本的处理及光学显微镜观察: (1)胆囊胆汁: 取送检的胆囊胆汁5 mL, 5000 r/min离心5 min, 倾去上层胆汁, 留取离心物约300 μ L, 充分振荡混匀备用; (2)胆囊胆泥: 称取送检的胆泥10 mg, 加适量双蒸水制成混悬液备用; (3)胆囊结石: 送检结石用蒸馏水冲洗表面3遍后, 直径>0.5 cm的结石取10 mg(不足10 mg者取全部), 泥沙样结石取数粒于研钵内, 加300 μ L蒸馏水研磨均匀备用。

每例标本涂玻片3张(每张约100 μ L), 面积接近每张玻片的1/2。然后光学显微镜(OLYMPUS BX51)观察其中虫卵的形态及其变化情况,

■ 研发前沿

华支睾吸虫成虫寄生在人体后, 可引起人体肝胆系统的一系列损伤, 其相应的致病机制多集中在成虫的致病作用方面, 而有关虫卵的致病作用和地位少有报道。

■相关报道

韩国学者Uddin等(2012)用体外培养的方式,发现华支睾吸虫虫卵在体外随着培养时间的延长,出现明显的形态变化和生存力丧失。乔铁等(2012)在胆囊结石中发现了大量华支睾吸虫卵,并指出胆色素结石形成与华支睾吸虫感染有关。

表 1 胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态改变情况比较 ($n = 20$, mean \pm SD)

标本类型	形态改变情况(%)	P值
胆囊胆汁	11.7 \pm 8.5	<0.001
胆囊胆泥	56.7 \pm 14.6	
胆囊结石	91.5 \pm 5.8	

P值: 任意两组间比较均 $P < 0.001$ 。

每张涂片不少于100个高倍视野。

1.2.3 标本的染色: 3种标本的前期处理同1.2.2。

(1)钙盐(Von Kossa)染色: 参考文献[13], 取处理后备用的标本涂片, 每例2张(约200 μ L), 自然干燥后染色, 二甲苯透明、中性树胶封片, 显微镜观察; (2)台盼蓝(Trypan blue)染色: 取上一步处理后的剩余标本(100 μ L), 加入4%台盼蓝(Trypan blue)染液(Sigma公司)100 μ L, 混合均匀, 静置3-5 min, 再用无菌滴管轻轻吹打混匀, 吸取100 μ L滴加到洁净玻片, 加盖玻片, 显微镜检, 观察、记录华支睾吸虫卵内部毛蚴的着色情况。

1.2.4 标本的扫描电镜观察和X射线能谱仪分析: 取5 mL胆囊胆汁的离心沉淀物、适量的胆囊胆泥和胆囊结石, 37 $^{\circ}$ C干燥、导电胶固定、喷金, 扫描电镜(德国ZEISS, LIS10)观察其中虫卵形态和X射线能谱仪(英国OXFORD公司)分析钙元素含量, SEM所用的电子枪加速电压为20 kV。

统计学处理 采用统计学软件SPSS16.0分析数据。胆囊胆汁、胆泥和结石中的虫卵形态变化及存活情况用mean \pm SD表示, 3个组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 各组间的多重比较采用SNK(Student-Neuman-Keuls)法, 检验水平为 $\alpha = 0.05$ (双侧), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3种标本中的华支睾吸虫卵形态及其与周围物质的关系 光学显微镜下, 胆囊胆汁中88.3%的虫卵易于辨认: 即芝麻形, 有壳, 卵内常可见内容物, 狭窄一端可见突出的卵盖, 宽而钝圆的一端(卵盖对侧)可见到点状小突起(图1)。相比之下, 胆泥和结石中则分别有56.7%和91.5%的虫卵不再具备上述典型形态或者说发生了形态改变而难于辨认, 这些形态改变表现为: 芝麻形外观变为椭圆形或条状、卵内容物看不清、卵盖丢失、卵壳表面和四周吸附黏液样物质和/或胆红素等(图1)。2种标本中形态改变的华支睾吸虫

表 2 胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵存活率比较 ($n = 20$, mean \pm SD)

标本类型	存活率(%)	P值
胆囊胆汁	86.6 \pm 9.5	<0.001
胆囊胆泥	42.1 \pm 11.8	
胆囊结石	11.5 \pm 6.8	

P值: 任意两组间比较均 $P < 0.001$ 。

卵所占的百分比差别显著($P < 0.05$, 表1)。

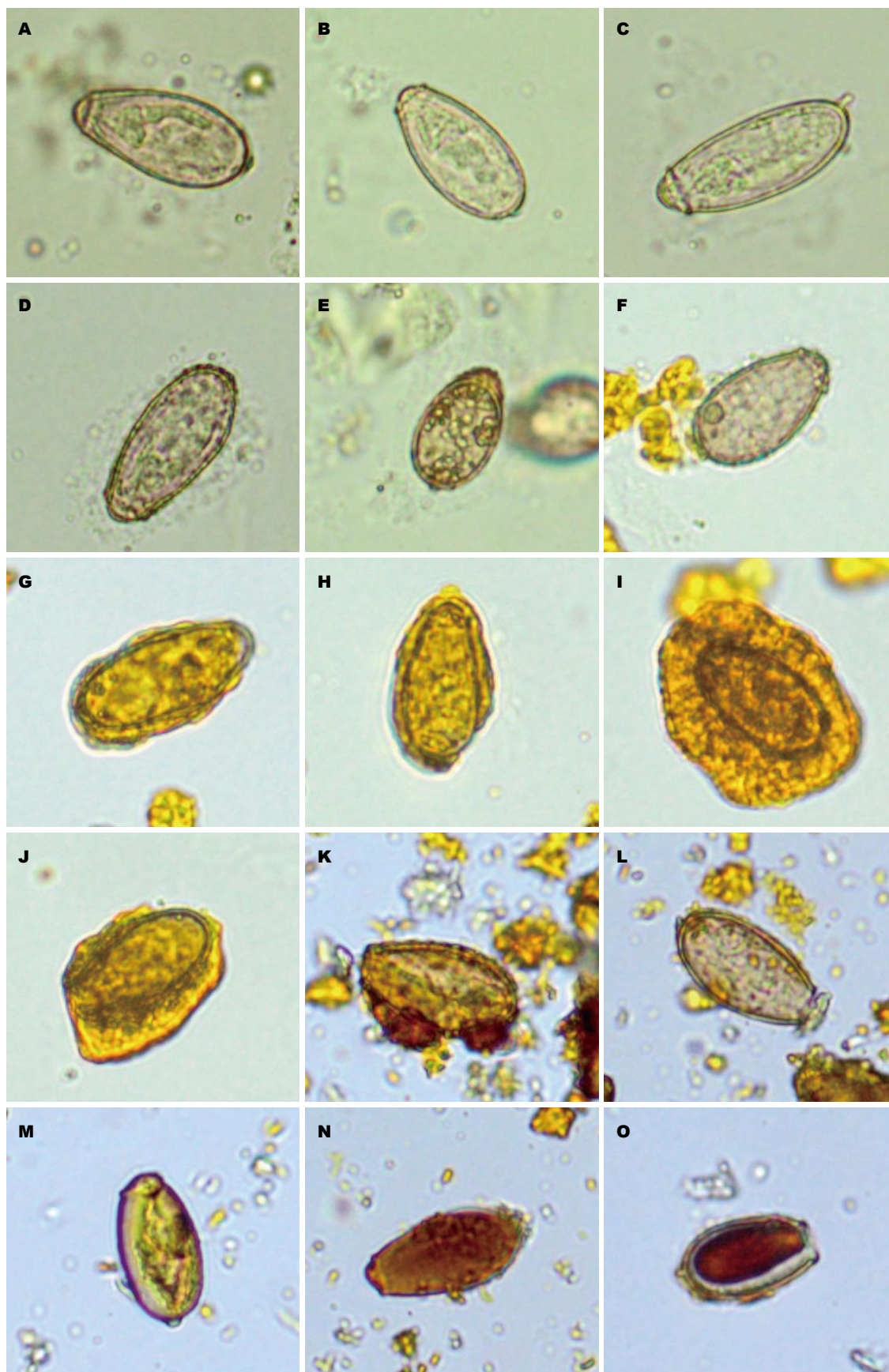
扫描电镜下, 胆汁中所有虫卵表面或卵壳为纹理状结构, 虫卵表面部分区域黏附有少量黏液样物质(图2), 而在胆泥中, 可见虫卵表面及四周大部分区域黏附黏液样物质甚至被黏液样物质完全包裹(图2)。在胆囊结石中, 还可见虫卵卵盖丢失、表面纹理状结构消失而变得光滑、周围黏附黏液样物质和碳酸钙结晶、甚至镶嵌于周围物质中(图2)。

2.2 华支睾吸虫卵表面和周围物质的钙盐染色 虫卵表面和周围物质的钙盐含量在一定程度上可反映虫卵在胆囊内储留时间的长短和钙化情况。钙盐(Von Kossa)染色结果显示: 从胆囊胆汁、胆泥到结石, 华支睾吸虫卵表面和周围物质的钙盐含量逐步递增(图3)。但在同一种标本上, 钙盐含量存在差异(图3); 进一步使用扫描电镜和X射线能谱分析仪, 分析3种标本中的虫卵表面和周围物质的钙元素分布情况, 与钙盐染色结果相符(图4)。

2.3 不同标本中华支睾吸虫卵存活率的比较 使用台盼蓝染色观察了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵存活率(表2)。结果显示: 在胆汁中, 86.6%的华支睾吸虫卵是存活或有活力的, 表现为台盼蓝染液不能透过卵壳(生物膜)而使卵内毛蚴着色; 而胆泥和结石中分别只有42.1%和11.5%的虫卵表现为存活(图5), 从胆汁、胆泥到结石, 华支睾吸虫卵的存活率明显减少($P < 0.05$)。

3 讨论

胆囊结石是世界范围的常见病、多发病^[14-16]。胆囊结石的发病是多种因素综合作用的结果。流行病学研究表明, 个体因素、饮食习惯、女性妊娠、家族遗传及消化系统疾病等均与胆囊结石的发病密切相关^[17-19]。近年来, 越来越多的证据表明, 胆道结石的发生可能与华支睾吸虫感染有关^[20-22]。有研究认为, 成虫



■创新盘点

本研究采用显微观察、组织化学染色以及X-射线能谱仪观察、分析了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态和存活率, 揭示了华支睾吸虫卵在胆囊结石形成中的作用和地位。

图 1 光学显微镜下, 胆囊胆汁、胆囊胆泥和胆囊结石中的正常及变形的华支睾吸虫卵(Mag × 400). A, B: 胆汁中的正常形态虫卵; C: 胆汁中的椭圆形虫卵; D: 胆汁中的表面吸附颗粒物质的虫卵; E: 胆汁中长度变短、表面及一端吸附胆红素和颗粒物的虫卵; F: 胆泥中形态较正常的虫卵, 但卵内毛蚴已看不清; G-I: 胆泥中的虫卵, 表面及四周黏附黏液和胆红素; J: 胆泥中虫卵, 卵盖丢失并黏附胆红素和黏液; K: 结石中的虫卵, 表面和周边吸附胆红素和黏液; L: 结石中卵盖即将分离的虫卵; M: 结石中固化的虫卵, 成半透明状; N: 结石中被胆红素和黏液完全包裹的虫卵; O: 结石中的虫卵, 卵盖丢失、卵内毛蚴吸附胆红素呈棕褐色。

■应用要点

本研究在一定程度上揭示了华支睾吸虫卵在胆囊结石发生中的地位和作用,为华支睾吸虫感染与胆囊结石的相关性提供了一个重要佐证,同时也可能为华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究以及胆囊结石病的预防治疗提供一种新的参考,具有重要的流行病学及临床意义。

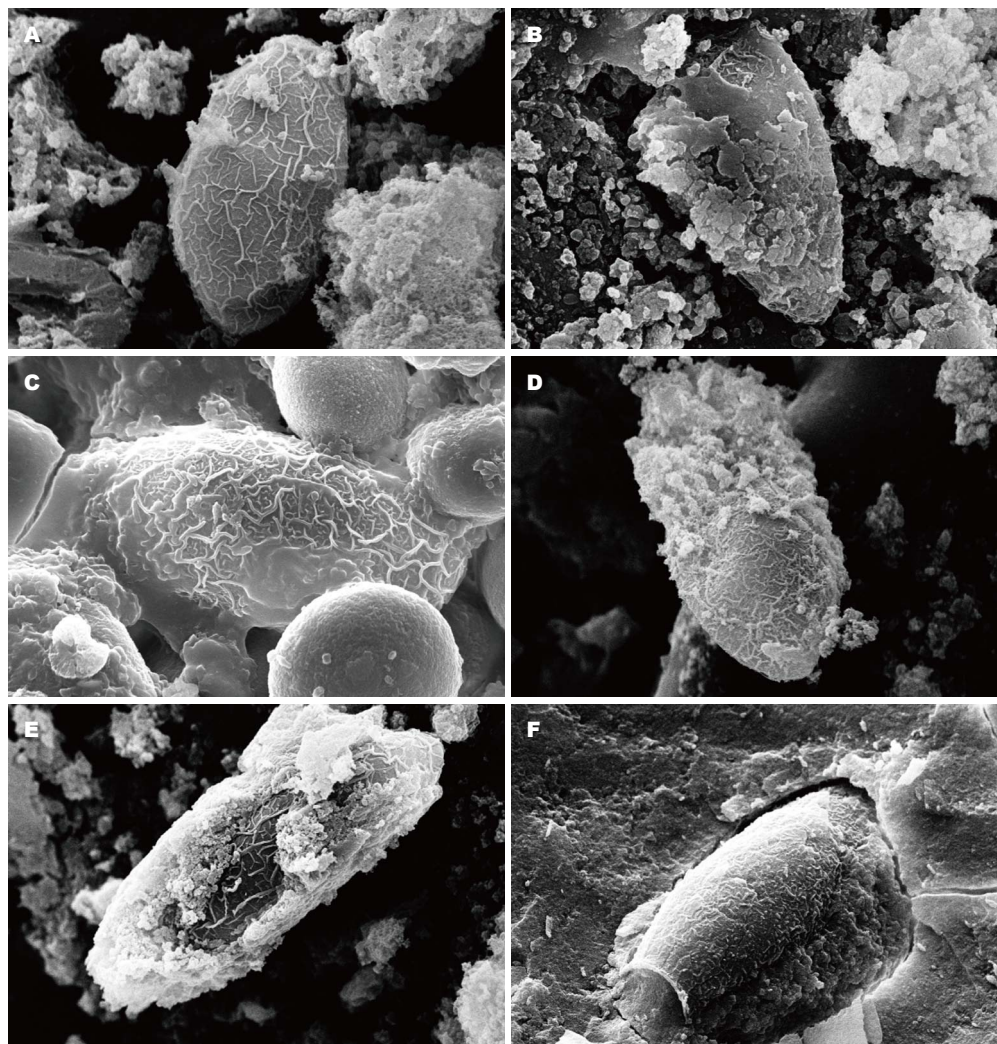


图2 电子扫描显微镜下,胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态(Mag × 3000). A: 胆汁中的虫卵,表面呈凹凸不平的纹理状结构; B: 胆泥中的虫卵,表面被胆红素颗粒和黏液包裹; C: 结石中的虫卵,表面及四周黏附黏液和碳酸钙结晶; D: 胆汁中的虫卵,卵盖端黏附有黏液; E: 胆泥中的虫卵,未被黏液完全包裹,可见部分纹理状结构; F: 镶嵌于结石中的虫卵,卵盖丢失、表面纹理状结构消失而变得光滑。

在肝胆管内破坏胆管上皮和黏膜下血管,再加上虫体的分泌物、代谢产物和机械刺激等因素的作用,可引起胆道结石的发生^[23]。此外,华支睾吸虫感染引起胆道上皮分泌的糖蛋白增加,并附着于虫卵表面作为结石的核心,起支架和黏附剂作用,促进胆红素钙的沉积,最后导致色素类结石的形成^[23,24]。乔铁等更是在胆囊结石中发现了大量华支睾吸虫卵^[12]。尽管如此,华支睾吸虫卵在胆囊结石形成中所处的地位和作用仍不清楚,有待深入研究。

研究认为胆囊结石形成与胆汁的性状和成分改变^[25,26]以及胆泥的形成有关^[27-29],本实验在华支睾吸虫病流行区20例胆囊结石患者的胆囊胆汁、胆泥和胆囊结石中同时发现了华支睾吸

虫卵。与胆囊胆汁相比,胆泥和结石中的虫卵大多为变形和无活力或死亡的虫卵(表1, 2)。结果提示,在感染华支睾吸虫的胆囊结石患者体内,胆汁中的部分虫卵可较长时间停留在胆囊内,并与胆囊中胆泥甚至结石的形成有一定关联。

然而,胆囊结石的形成是一个复杂的演变过程。如果虫卵全程参与其中,其必然在胆囊内经历从液相到固相的形态变化,本实验结果证实了上述推测:即胆汁中的80%以上的虫卵多为形态典型且有活力,而胆泥和结石中则分别有50%和85%以上的虫卵出现变形和变性、死亡(表1, 2)。这提示人体感染华支睾吸虫后,部分华支睾吸虫虫卵可以长时间储留于胆囊内并发生形态改变、变性、死亡,直至成核,参与胆囊结石的形成。韩国学者Uddin等^[30]用体外培养的方

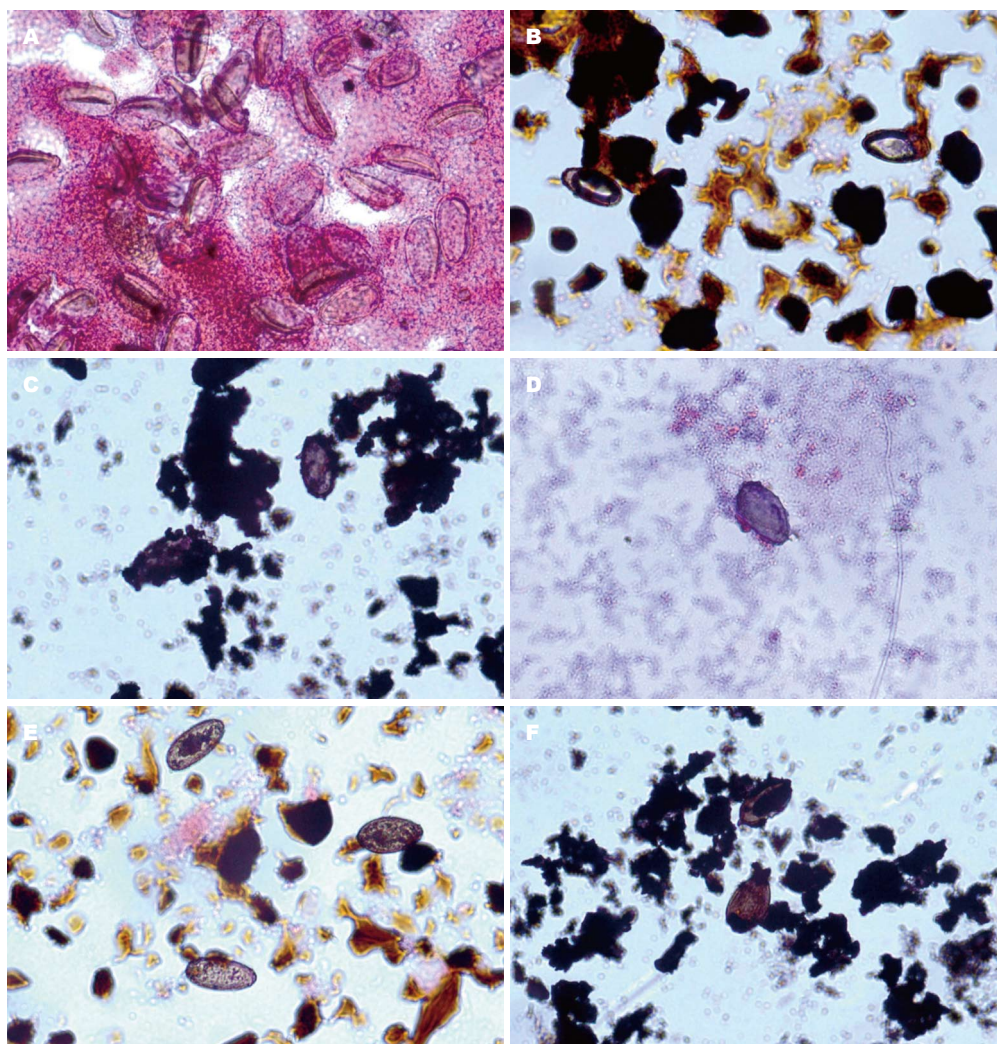


图 3 胆囊胆汁、胆泥和结石中, 华支睾吸虫卵及周围物质的Von Kossa(钙盐)染色结果(Mag × 400), 黑色或黑褐色为染色阳性即黑色或黑褐色染色区域为含有钙盐区域, 提示此区域存在钙化。A: 胆汁中的虫卵和黏液染色为阴性; B, E: 胆泥中虫卵表面和周围大部分区域呈阳性, 棕黄色区域为胆红素和黏液混合物; C, F: 结石中虫卵表面和周围全部区域染色呈强阳性; D: 胆汁中个别虫卵表面染色成弱阳性。

同行评价

本研究采用显微观察、组织化学染色以及X-射线能谱仪观察、分析了胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵形态和存活率, 对于解释华支睾吸虫卵是否参与胆囊结石形成的过程, 华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究, 具有重要的流行病学及临床意义。书写规范, 思路清晰。

式, 将华支睾吸虫卵置于不同培养液中, 观察了虫卵的形态、存活率与培养液和培养时间的关系。发现虫卵在体外随着培养时间的延长, 出现明显的形态变化和生存力丧失。该结果从一个侧面证实了本实验的结果和推论。

胆囊结石的形成可以被看做是一种异常的生物矿化(包括钙化)过程^[31,32], 因此, 虫卵表面和周围物质的钙盐含量可部分反映虫卵在胆囊内滞留的时间。本实验结果也与上述观点一致, 发现从胆汁、胆泥到结石, 虫卵表面和周围物质的钙盐含量逐级增多(图3, 4)。同时也表明, 研究病例胆囊结石的形成与虫卵的钙化有关。需要指出的是, 在同一胆汁、胆泥和结石中, 个别虫卵之间钙盐含量存在差异(图3, 4), 提示虫卵参与胆囊结石形成是渐进累积的过程, 只有部分

虫卵能储留于胆囊并最终参与结石的形成。此外, 虫卵储留于胆囊内的数量和时间可能还与成虫的排卵量和持续时间、胆囊的收缩功能、胆汁的化学成分、胆道中黏蛋白的含量及机体的感染程度和免疫情况等有关。这也可用来解释不是所有的华支睾吸虫感染患者都会发生胆囊结石。

以上结果引发了一个不容回避的问题, 华支睾吸虫卵是如何停留在胆囊内并参与结石的形成? 扫描电镜结果显示, 虫卵表面为特殊的网状结构(图2), 此结构可使虫卵容易吸附并停留于凹凸不平的胆囊黏膜皱襞内。同时, 机体感染华支睾吸虫后, 引起胆道黏蛋白分泌增多^[33], 黏蛋白不同程度黏附在虫卵表面和周围(图2), 使其不易排出胆囊; 附着于虫卵表面和周围的黏蛋

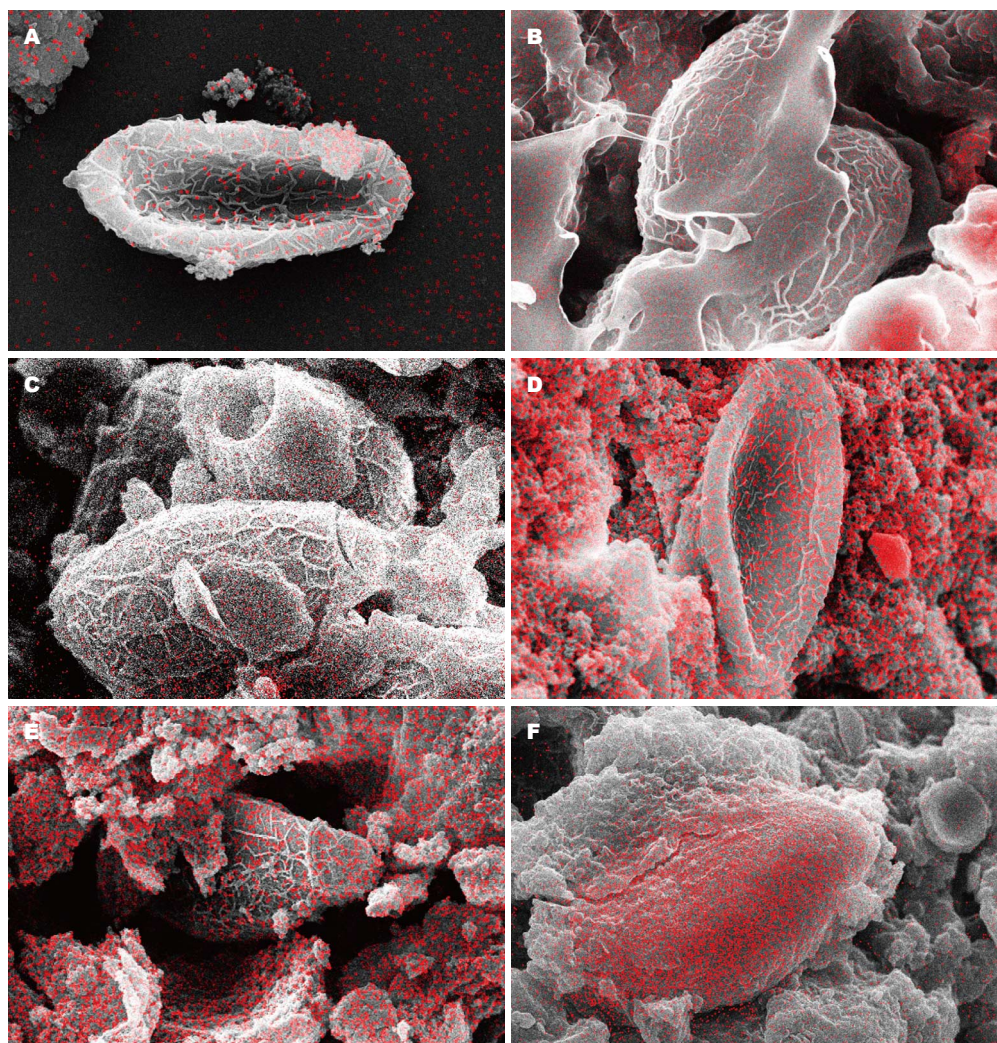


图4 扫描电镜和X-射线能谱仪联合分析胆囊胆汁、胆泥和结石中的华支睾吸虫卵及周围物质的钙元素分布情况, 红点代表钙元素, 红点越多越密集, 代表钙含量越高(Mag $\times 3000$)。A, D: 同一例胆汁中的两个虫卵, 表面钙含量差别较大; B, E: 同一例胆泥中, 虫卵和周围物质的钙含量不同; C, F: 同一例结石中, 被黏液样物质包裹的虫卵表面钙含量较高。

白还能促进碳酸钙、胆红素钙、磷酸钙等钙盐的沉积^[34-36], 致使虫卵钙化、成核, 导致结石形成。但是, 上述结论还需要进一步证实。

需要指出的是, 胆囊结石是一种多因素疾病, 华支睾吸虫感染可能只是因素之一, 因此其可能会改变胆囊结石的人群分布和结石类型^[10], 但对发病率影响不是绝对的。对于二者的关系, 应该从两个方面来看待。一方面, 本研究结果已经证实华支睾吸虫感染尤其是华支睾吸虫卵在胆囊结石形成过程中有一定作用; 另一面, 这只表明二者有相关性, 并不能说明二者存在因果关系或先后关系, 二者既可独立发病又存在某种特定联系。我们的观点是: 胆囊结石病是一种多因素的疾病, 是许多因素如饮食、年龄、性别、遗传、身体内环境等综合作用的结果, 其中任何一个因素包括华支睾吸虫感染, 都可能

是危险因素而非决定因素。

总之, 人体感染华支睾吸虫后, 虫卵可通过表面的纹理状结构和胆道的黏液样物质储留于胆囊内并发生变形、变性、死亡以至钙化成核, 形成胆泥, 进而参与形成胆囊结石。本研究在一定程度上揭示了华支睾吸虫卵在华支睾吸虫感染相关的胆囊结石发生中的地位和作用, 为华支睾吸虫感染与胆囊结石的相关性提供了一个重要佐证, 同时也可能为华支睾吸虫尤其是虫卵对宿主的作用、华支睾吸虫感染引起的肝胆疾病的致病机制研究以及胆囊结石病的预防治疗提供一种新的参考, 具有重要的流行病学及临床意义。

志谢: 感谢广州市南沙区第六人民医院普外科冯禹阳、王兴强、王小锋、王刚、黄毅敏医生

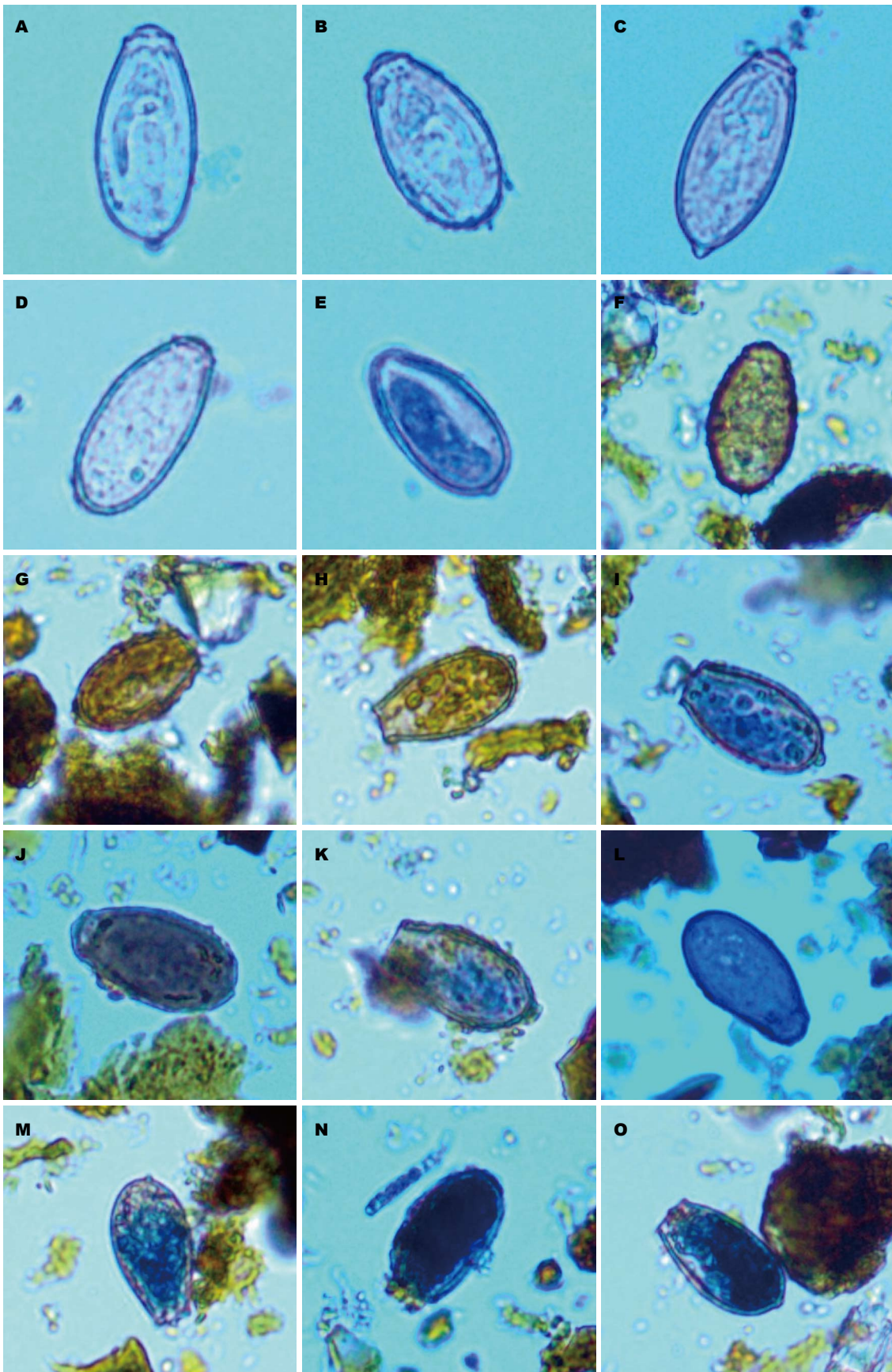


图 5 胆囊胆汁、胆泥和结石中, 华支睾吸虫卵的台盼蓝(Trypan blue)染色结果, 存活的虫卵表现为其内部的毛蚴不着蓝色, 而变性或死亡的虫卵则内部毛蚴着色(Mag $\times 400$)。A-D: 胆汁中存活的虫卵; E: 胆汁中变性或死亡的虫卵; F: 胆泥中钙化的虫卵; G, H: 胆泥中死亡的虫卵, 卵盖丢失, 毛蚴被胆红素染色; I, J: 胆泥中变性或死亡的虫卵; K-O: 结石中变性或死亡的虫卵, 内部毛蚴不同程度地蓝染。

提供研究用的胆囊胆汁、胆泥和结石标本, 特此志谢!

4 参考文献

- Chai JY, Darwin Murrell K, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol* 2005; 35: 1233-1254 [PMID: 16143336 DOI: 10.1016/j.ijpara.2005.07.013]
- 钱门宝, 周晓农, 方悦怡, 梁松, 陈颖丹. 加强中国华支睾吸虫病研究. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2011; 29: 211-214
- Zhou P, Chen N, Zhang RL, Lin RQ, Zhu XQ. Food-borne parasitic zoonoses in China: perspective for control. *Trends Parasitol* 2008; 24: 190-196 [PMID: 18314393 DOI: 10.1016/j.pt.2008.01.001]
- Keiser J, Utzinger J. Food-borne trematodiasis. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 466-483 [PMID: 19597009 DOI: 10.1128/CMR.00012-09]
- Xue-Ming L, Ying-Dan C, Yi O, Hong-Man Z, Rui L, Weil M. Overview of human clonorchiasis sinensis in China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42: 248-254 [PMID: 21710843]
- 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2005; 23: 332-340
- Conlan JV, Sripa B, Attwood S, Newton PN. A review of parasitic zoonoses in a changing Southeast Asia. *Vet Parasitol* 2011; 182: 22-40 [PMID: 21846580 DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.07.013]
- 杨六成, 黄宝裕, 薛桂芳, 李晓林, 莫顶立. 华支睾吸虫感染与肝胆胰外科疾病的关系(附650例临床分析). *中华肝胆外科杂志* 2004; 10: 165-166
- 朱师晦, 罗章炎, 钟杏裳. 中华分支睾吸虫病与其它肝胆疾病的关系-2214例临床分析. *中华内科杂志* 1982; 21: 34
- Qiao T, Ma RH, Luo XB, Luo ZL, Zheng PM. Cholecystolithiasis is associated with *Clonorchis sinensis* infection. *PLoS One* 2012; 7: e42471 [PMID: 22905137 DOI: 10.1371/journal.pone.0042471]
- 乔铁, 马瑞红, 张阳德, 冯禹阳, 王兴强, 王小峰. 华支睾吸虫感染与胆囊结石研究报告. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 2094-2098
- 乔铁, 马瑞红, 罗小兵, 罗振亮, 郑培明. 华支睾吸虫卵参与胆囊结石的形成. *中华肝胆外科杂志* 2012; 18: 671-675
- Bancroft J, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 2nd Ed. New York: Churchill Livingstone, 1982: 125, 139
- 谭宜将, 刘衍民. 胆囊结石发病原因研究现状与进展. *中国实用外科杂志* 2009; 29: 602-603
- 张新燕, 冯远德, 宋文渊. 胆囊结石病的治疗进展. *海南医学院学报* 2010; 16: 251-254
- 韩天权, 蒋兆彦, 张圣道. 胆固醇结石形成机制的基因研究现状与展望. *外科理论与实践* 2009; 14: 125-127
- Shaffer EA. Gallstone disease: Epidemiology of gallbladder stone disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 981-996 [PMID: 17127183 DOI: 10.1016/j.bpg.2006.05.004]
- Stinton LM, Myers RP, Shaffer EA. Epidemiology of gallstones. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 157-169, vii [PMID: 20478480 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.02.003]
- 于岚, 何小东, 武峨. 胆囊结石相关危险因素的探讨. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 711-713
- Huang SC, Chen L, Eng HL, Chen WJ. Gallbladder adenocarcinoma with gallstone and calcified ova of *clonorchis sinensis*--a case report. *Changcheng Yixue Zazhi* 1994; 17: 94-99 [PMID: 8205506]
- 边红放, 张利永, 向军, 李玲芬, 许亚辉, 李勇, 王敏华. 华支睾吸虫感染并发胆结石一例. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2001; 19: 353
- 谢琼琚, 徐仙赞, 苏水莲. 重症华支睾吸虫病合并胆结石1例. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2009; 27: 106-106
- 李雍龙. *人体寄生虫学*. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 187
- 陈兴保, 吴观陵, 孙新. *现代寄生虫学*. 北京: 人民军医出版社, 2002: 571-589
- 蒋兆彦, 韩天权, 张圣道. 胆固醇结石病的发生机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1191-1195
- 李新平, 欧阳克清, 蔡绍哲. 胆汁分泌与排出的调节. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 1066-1070
- Shaffer EA. Gallbladder sludge: what is its clinical significance? *Curr Gastroenterol Rep* 2001; 3: 166-173 [PMID: 11276386 DOI: 10.1007/s11894-001-0015-6]
- Lee SP, Nicholls JF. Nature and composition of biliary sludge. *Gastroenterology* 1986; 90: 677-686 [PMID: 3943697]
- Pazzi P, Gamberini S, Buldrini P, Gullini S. Biliary sludge: the sluggish gallbladder. *Dig Liver Dis* 2003; 35 Suppl 3: S39-S45 [PMID: 12974509 DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00093-8]
- Uddin MH, Bae YM, Choi MH, Hong ST. Production and deformation of *Clonorchis sinensis* eggs during in vitro maintenance. *PLoS One* 2012; 7: e52676 [PMID: 23285144 DOI: 10.1371/journal.pone.0052676]
- Demir T. Is there any relation of nanobacteria with periodontal diseases? *Med Hypotheses* 2008; 70: 36-39 [PMID: 17587506 DOI: 10.1016/j.mehy.2007.04.034]
- Nancollas GH. Crystallization in bile. *Hepatology* 1984; 4: 169S-172S [PMID: 6090296 DOI: 10.1002/hep.1840040832]
- 王乐旬, 徐劲. 华支睾吸虫致胆管癌的研究进展. *国际医学寄生虫病杂志* 2010; 37: 366-370
- Imano M, Satou T, Itoh T, Takeyama Y, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Haji S, Yasuda C, Nakai T, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Shiozaki H, Ohyanagi H. An immunohistochemical study of osteopontin in pigment gallstone formation. *Am Surg* 2010; 76: 91-95 [PMID: 20135947]
- Sayers C, Wyatt J, Soloway RD, Taylor DR, Stringer MD. Gallbladder mucin production and calcium carbonate gallstones in children. *Pediatr Surg Int* 2007; 23: 219-223 [PMID: 17225180 DOI: 10.1007/s00383-006-1867-5]
- Chen EY, Yang N, Quinton PM, Chin WC. A new role for bicarbonate in mucus formation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 299: L542-L549 [PMID: 20693315 DOI: 10.1152/ajplung.00180.2010]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学

吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华

吕复君, 单建华, 开封市中心医院外科 河南省开封市 475000
吕复君, 刘江伟, 张东, 蒋银花, 卢静, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

吕辉琴, 韩永华, 庞国栋, 中国人民解放军新疆军区机关门诊部 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

吕复君, 主要从事肝胆疾病的研究。

新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 201042145

作者贡献分布: 吕复君与刘江伟对此文所做贡献均等; 此课题由吕复君与刘江伟设计; 研究过程由吕复君、刘江伟、韩永华、庞国栋及蒋银花组成流调小组完成流行病学调查; 数据录入由吕辉琴、张东及卢静协助完成; 数据分析由吕复君完成; 单建华参与文章的修改; 论文写作由吕复君与刘江伟完成。

通讯作者: 刘江伟, 主任医师, 硕士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市友好北路359号, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科。ljw273@sohu.com

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-08

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang

Fu-Jun Lv, Jiang-Wei Liu, Hui-Qin Lv, Dong Zhang, Yong-Hua Han, Guo-Dong Pang, Yin-Hua Jiang, Jing Lu, Jian-Hua Shan

Fu-Jun Lv, Jian-Hua Shan, Department of Surgery, the Central Hospital of Kaifeng City, Kaifeng 475000, Henan Province, China

Fu-Jun Lv, Jiang-Wei Liu, Dong Zhang, Yin-Hua Jiang, Jing Lu, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hui-Qin Lv, Yong-Hua Han, Guo-Dong Pang, Outpatient Department, the Headquarters of the Xinjiang Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201042145

Correspondence to: Jiang-Wei Liu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, 359 Youhao North Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ljw273@sohu.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-09-08

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Uygur, Han and Kazak populations in Xinjiang Uygur Autonomous Region.

METHODS: Typical sampling followed by stratified random sampling was adopted. The unified questionnaire about risk factors for gallbladder diseases in Xinjiang was administered, and each participant was asked to finish a questionnaire about epidemiological data of gallbladder polyps and undergo abdominal ultrasonography of the liver and gallbladder. The survey data were input with Epidata3.

RESULTS: A total of 6024 residents aged > 18 years participated in the study between June 2011 and September 2011, accounting for 2.88/10000 of all residents in the Xinjiang Uygur Autonomous Region. 5454 participants completed the questionnaire. Their age ranged from 18 to 88 years, with a mean age of 45.2 ± 14.1 years. The overall prevalence of gallbladder polyps was 5.8%. The prevalence of gallbladder polyps in Han, Uygur, Kazak and other ethnic groups was 7.1%, 3.5%, 5.6% and 7.0%, respectively, which had a significant ethnic difference ($\chi^2 = 22.385$, $P = 0.000$). Logistic regression analysis showed that gender, body mass index, ethnicity and breakfast correlated with gallbladder polyps.

CONCLUSION: The prevalence of gallbladder polyps differed significantly between populations of Han, Uygur, Kazak and other ethnic groups. The prevalence of PLG correlates mainly with ethnicity, age, gender, body mass index and breakfast.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gallbladder polyps; Prevalence; Risk factors; Epidemiology

Lv FJ, Liu JW, Lv HQ, Zhang D, Han YH, Pang GD, Jiang YH, Lu J, Shan JH. Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps in Han, Uygur and Kazak populations in Xinjiang. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3647-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3647>

摘要

目的: 了解新疆维吾尔自治区汉族、维

■背景资料

胆囊息肉样病变 (polypoid lesions of the gallbladder, PLG)(简称胆囊息肉)的患病率因地区不同而存在差异,也是胆囊常见病之一。且随着人口年龄的增长、人们生活节奏的加快、生活水平的提高以及B超的广泛普及,国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,以我国明显。

■同行评议者

李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

■ 研究前沿

了解新疆维吾尔自治区少数民族胆囊息肉样病变的患病率及其相关因素。背景资料:国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,尤以我国明显。PLG比起胆囊结石和胆囊炎的患病虽然少的多,但有些息肉具有癌变倾向,通过流行病学调查了解各地区PLG的患病率及其相关因素,藉以指导胆囊息肉的预防和治疗。

吾尔族、哈萨克族3个民族胆囊息肉样病变(polypoid lesions of the gallbladder, PLG)的患病率及其相关因素。

方法:采用典型抽样然后再多阶段分层随机抽样的方法。应用统一制定的新疆地区胆囊疾病危险因素调查表,对研究对象逐一填写调查问卷的方法收集PLG的流行病学资料,同时行肝脏和胆囊的腹部B超检查。调查数据录入采用Epidata3.1双录入。参加此项调查的工作人员和输入数据的录入员均进行了严格的质量控制。

结果:于2011-06/2011-09对新疆维吾尔自治区6024例18岁以上居民成为此次调查的研究对象约占新疆地区人口2.88/10000,其中问卷完整者有5454例。年龄在18-88岁之间,平均年龄45.2岁±14.1岁。通过本次调查得出新疆地区抽样人群中PLG患病率为5.8%。汉族、维吾尔族、哈萨克族和其他民族PLG的患病率分别为7.1%、3.5%、5.6%、7.0%,民族差异有统计学意义($\chi^2 = 22.385, P = 0.000$)。胆囊息肉的相关因素先采用单因素Logistic回归分析,有统计学意义的再用多因素Logistic回归分析,多因素Logistic回归分析表明性别、体质指数(body mass index, BMI)、民族等与胆囊息肉患病有关。

结论:汉族、维吾尔族、哈萨克族和其他民族人群中PLG患病率差异均有统计学意义,且总PLG患病率男性高于女性。民族、性别、BMI、年龄、不食早餐与胆囊息肉患病有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆囊息肉; 患病率; 相关因素; 流行病学

核心提示: 汉族、维吾尔族和哈萨克族胆囊息肉的患病率分别为7.1%、3.5%、5.6%,且胆囊息肉患病率男性高于女性。民族、性别、体质指数、年龄、不食早餐与胆囊息肉患病有关。

吕复君, 刘江伟, 吕辉琴, 张东, 韩永华, 庞国栋, 蒋银花, 卢静, 单建华. 新疆维吾尔自治区汉、维、哈3个民族胆囊息肉的流行病学. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3647-3653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3647>

0 引言

胆囊息肉样病变(polypoid lesions of the gallbladder, PLG)(简称胆囊息肉)的患病率因地区不同而存在差异,也是胆囊常见病之一。且随着人口

年龄的增长、人们生活节奏的加快、生活水平的提高以及B超的广泛普及,国内外有关资料显示胆囊疾病的发病率呈逐年上升趋势,尤以我国明显。PLG比起胆囊结石和胆囊炎的患病虽然少的多,但有些息肉具有癌变倾向,通过流行病学调查了解各地区PLG的患病率及其相关危险因素,藉以指导胆囊息肉的预防和治疗。迄今为止,国内外尚未见新疆地区少数民族PLG的患病率及相关因素报道,本次调查探讨新疆汉族、维吾尔(维)族、哈萨克(哈)族及其他民族PLG的患病情况和新疆地区PLG的相关影响因素。

1 材料和方法

1.1 材料 以新疆地区18岁以上的成年居民为研究对象,长期居住至少≥1年者,排除外来临时务工人员 and 户口迁入本地区但生活未满1年者。以上作为总样本的基数。最后删除不行B超检查和配合度差的调查问卷。

1.2 方法

1.2.1 抽样:采用典型抽样然后再多阶段分层随机抽样的方法。第一阶段分层是以县(师)为样本地区;第二阶段分层是以乡(团)为样本地区,第三阶段分层是以村(连)为样本地区,最后是住户为样本个体。在农村调研时以乡镇卫生所(院)为平台,城市社区以社区服务站(卫生所)为平台。先采用抽取各地州少数民族聚居区6个市(吐鲁番市、库尔勒市、阿克苏市、伊宁市、博乐市、哈密市)、11个县(和硕县、和静县、库车县、拜城县、察布查尔自治县、塔城沙湾县、托里县、额敏县、哈巴河县、巴里坤哈萨克自治县、奇台县)和1个阿尔泰北屯兵团师部。后采用多阶段分层随机抽样方法抽取23个自然村20个社区和2个团场。采用统一自制的调查问卷。同时调查问卷翻译成维吾尔文相对照的调查问卷。在2011-06/2011-09我流调小组按农村与城市抽样比例大约是1:1进行,每个村庄及社区计划随机抽取38户(约150例被调查者),对个别较小村庄随机抽取20户(约80例被调查者)。在村庄村干部带领进行入户调查并填写调查问卷或由社区服务站工作人员指导入户调查,同时预约腹部肝胆B超。全疆抽取总样本量为6024例的居民。

1.2.2 调查内容:(1)一般情况:性别、年龄、体质质量、身高、本地居住年限、婚姻及文化程度;(2)吸烟、饮酒、奶茶;(3)饮食:早餐、辛辣饮食、肉类、水果、黄绿色蔬菜类、葱蒜类、根

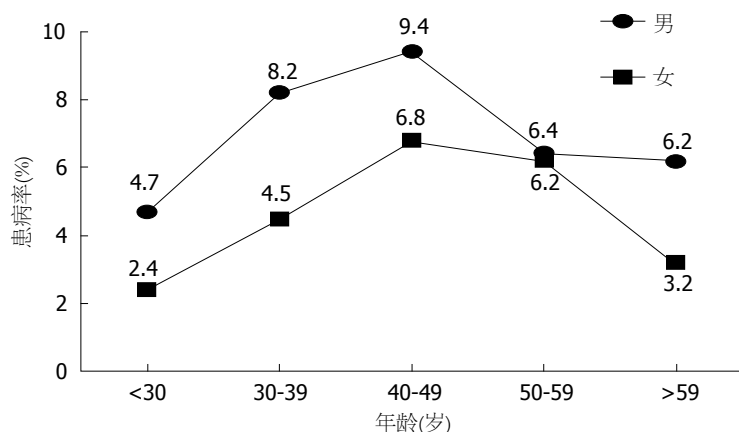


图1 性别在年龄分组中PLG的患病分布情况。PLG: 胆囊息肉样病变。

■ 相关报道

有关胆囊息肉的患病率及相关因素在国内外均有不少报道,但是在新疆这个天气干燥、昼夜温差较大、海拔较高的特殊地区和少数民族有关的胆囊息肉的患病率及相关因素的调查研究显得重要。

茎类、食用菌类、腌制蔬菜类、奶类、禽蛋类及饮水情况; (4)胆囊疾病患病史及家族史等因素; (5)超声检查。

1.2.3 诊断标准: 胆囊息肉B超诊断标准: (1)由胆囊壁向腔内突起的乳头状或桑葚状强回声或中等回声结节, 常为多发, 多数有长短不等的蒂, 不随体位改变而移动, 一般无声影; (2)超声未探及胆囊, 腹部有胆囊切除术瘢痕及胆囊切除术后病理证实为PLG者。B超检查诊断PLG的敏感性为90.1%, 特异性为93.9%^[1]。

1.2.4 质量控制: 超声检查由新疆军区联勤部机关门诊部超声科一名医生(副主任医师)和兰州军区乌鲁木齐总医院一名超声副主任医师行胆囊超声检查(MINDRAY DP-6600全数字化便携式超声诊断仪, 探头频率3.5 MHz), 并出具报告。参加此项调查的工作人员均为医务工作者, 分别来自兰州军区乌鲁木齐总医院和新疆军区机关门诊部, 对参加问卷调查的人员都要进行严格相关专业问题、表格填写及表格解释等的详细讲解并做一些预调查。在流调工作中调查员与被调查者实行面对面填写调查问卷, 同时检查问卷填写是否完善, 对不完善的表格要进行追踪, 以便表格更加准确完整。并抽取5%的样本进行复核, 符合率达99.5%。输入数据的录入员均来自吐鲁番某部队卫生队的10名卫生员, 数据录入前的进行严格集体培训, 最后录入员将数据进行双录入, 对两次录入数据差异进行对比并检错, 以保证数据的准确性。平均每个调查员填一份调查表需要9.37 min。调查员填表时的配合度进行分析, 发现配合度好占98.6%, 而配合度差的有1.4%, 配合度差的调查问卷视为失访人数。

统计学处理 统一对合格的调查表用Epidata 3.1进行双录入并检错, 之后导入SPSS17.0。应用

SPSS17.0统计软件包进行数据分析。相关因素先采用单因素Logistic回归分析, 有统计学意义的再应用多因素Logistic回归分析; 两个或多个样本率的比较用卡方检验; 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 调查结果 全新疆地区共有6024例被调查者参与, 其中符合条件者有5454例成为本课题的研究对象, 应答率为90.54%。男性1946例(35.7%), 女性3508例(64.3%)。平均年龄45.2岁 \pm 14.1岁, 最小年龄18岁, 最大年龄88岁。仅有14例合并胆囊结石, 未作统计分析。

2.2 新疆地区PLG患病率 新疆地区PLG的患病率达5.8%, 其中汉族人群的胆囊息肉患病率7.1%, 维族为3.5%, 哈族为5.6%, 其他民族为7.0%, 差异具有显著性($P = 0.000$)。总PLG的患病率男性明显高于女性, 差异具有显著性($P = 0.000$)。

2.3 性别在各民族不同年龄段PLG的患病情况 在年龄组中<30岁、30-39岁、40-49岁、50-59岁、>59岁5个年龄阶段总体PLG的患病率分别为3.1%、5.7%、7.8%、6.3%、4.4%, 差异有统计学意义($P = 0.000$), PLG的高发年龄段是40-49岁, 随后PLG的患病率逐渐下降。男性和女性年龄分组中PLG患病率高龄年龄均为中年人, 女性随年龄增长而增高, 至高峰年龄后呈平稳状态($P = 0.000$), 而男性随年龄增长而增高至高峰年龄后呈现下降趋势(图1)。哈族和汉族PLG的患病率男女差异有统计学意义($P < 0.05$), 维族和其他民族男女差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。

2.4 年龄分层后各民族PLG的患病情况 各民族在30-39岁、50-59岁和>59岁年龄段中均有统计学意义($P < 0.05$), 在<30及40-49岁年龄段中均

■创新盘点

本文有助于进一步了解新疆维吾尔自治区不同民族胆囊息肉样病变的患病率及其相关因素,为新疆地区胆囊息肉的防治提供更充分的理论依据,是今后新疆地区胆囊息肉下一步研究的基础。

表 1 性别在各民族胆囊息肉样病变患病率的比较

性别	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族	
	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$
男	896	81(9.0)	483	16(3.3)	416	34(8.2)	151	14(9.3)
女	1378	81(5.9)	923	33(3.6)	871	38(4.4)	336	20(6.0)
合计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)
χ^2		8.205		0.065		7.739		1.767
<i>P</i> 值		0.004		0.799		0.005		0.184

表 2 新疆年龄分组中各民族胆囊息肉样病变患病率比较

年龄分组(岁)	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族		χ^2	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$	<i>n</i>	患病 $n(\%)$		
<30	201	6(3.0)	180	4(2.2)	231	7(3.0)	66	4(6.1)	2.402	0.493
30-39	444	34(7.7)	363	8(2.2)	473	29(6.1)	148	10(6.8)	11.944	0.008
40-49	734	67(9.1)	373	24(6.4)	276	15(5.4)	133	12(9.0)	5.200	0.158
50-59	371	22(5.9)	221	7(3.2)	165	18(10.9)	83	6(7.2)	9.805	0.020
>59	524	33(6.3)	269	6(2.2)	142	3(2.1)	57	2(3.5)	9.296	0.026
总计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)	22.385	0.000

无统计学意义($P>0.05$, 表2)。其中汉族、维族和哈族PLG患病率在年龄组中均有统计学意义($\chi^2=11.191$, $P=0.025$; $\chi^2=13.596$, $P=0.009$; $\chi^2=15.231$, $P=0.004$), 而其他民族PLG患病率在年龄分组中无统计学意义($P>0.05$)。与其他民族不同的是哈族PLG患病高峰年龄为50-59岁, 而其他民族在40-49岁。

2.5 体质指数在各民族中PLG的患病情况 在<23 kg/cm²、23-24.5 kg/cm²和≥25 kg/cm²组中各民族PLG患病率差异均有统计学意义(表3)。而哈族PLG患病率随BMI的增加呈增加趋势($P=0.000$), 哈族、维族及其他民族无统计学意义; 总体PLG的患病率随BMI的增加呈增加趋势($P=0.006$)。

2.6 PLG相关因素的多因素Logistic回归分析 对PLG疾病中经单因素分析有统计学意义的因素再进行多因素Logistic回归分析, 去除其他混杂因素影响后进入模型(表4)。民族、年龄、性别、BMI、早餐与PLG患病有关。

3 讨论

胆囊息肉是一种临床常见疾病之一, 具有分布广泛, 患病率较高的特点。目前新疆地区尚缺乏相应资料, 本研究通过典型抽样及多级分层随机抽样进行新疆地区少数民族胆囊息肉的流行病

学调查, 并分析相关因素。国外流行病学调查显示在成年人人群中PLG的患病率范围为1.0%-9.5%之间^[2-5], 其中大量流行病学调查资料^[6]表明日本PLG的患病率范围为2.6%-5.6%之间, 德国为1.5%, 丹麦为4.8%-6.7%, 印度为0.32%。平均在5%以下, 新疆地区胆囊息肉的患病率为5.8%高于国外平均患病率, 但明显高于德国及印度, 不同国家胆囊息肉患病率存在明显差异, 这可能与各国调查的人群有关, 也可能不同的研究设计有关。在我国舟山市^[7]和合肥市^[8]PLG的患病率分别是6.24%和3.39%; 广州^[9]PLG患病率为2.68%; 上海^[10]PLG患病率为5.23%; 广西南宁市^[11]体检人群PLG检出率为4.03%, 台湾^[1]PLG患病率达9.5%。国内平均在5%以下, 其患病率有逐年增长趋势^[12,13]。我国不同地区胆囊息肉的患病率也存在差异, 除台湾PLG患病率较高以外, 新疆PLG患病率明显高于我国广州、合肥及广西等地, 与上海及舟山市的调查结果基本一致, 这可能受生活环境、饮食习惯、民族及调查方法等因素的影响。

本次调查结果提示汉族人群的胆囊息肉患病率7.1%, 维族为3.5%, 哈族为5.6%, 其他民族为7.0%。其中维族与汉族、哈族、其他民族之间胆囊息肉患病率差异均有统计学意义($P<0.05$), 而汉族、哈族、其他民族间比较无统

表 3 新疆BMI分组中各民族胆囊息肉样病变患病率比较

BMI分组	汉族		维吾尔族		哈萨克族		其他民族		χ^2	P值	总计	
	n	患病n(%)	n	患病n(%)	n	患病n(%)	n	患病n(%)			n	患病n(%)
<23	965	65(6.7)	652	20(3.1)	573	19(3.3)	203	8(3.9)	15.58	0.001	2393	112(4.7)
23-24.9	586	48(8.2)	232	6(2.6)	240	10(4.2)	115	12(10.4)	13.73	0.003	1173	76(6.5)
≥25	723	49(6.8)	522	23(4.4)	474	43(9.1)	169	14(8.3)	9.12	0.028	1888	129(6.8)
合计	2274	162(7.1)	1406	49(3.5)	1287	72(5.6)	487	34(7.0)	22.39	0.000	5454	317(5.8)

表 4 胆囊息肉相关因素的多因素分析结果

因素	系数B	标准误	Wald χ^2	自由度	P值	OR值	OR值95%可信区间	
							下限	上限
体质量指数	0.159	0.068	5.511	1	0.019	1.172	1.027	1.338
年龄	-0.371	0.120	9.596	1	0.002	0.690	0.545	0.872
早餐	-0.198	0.097	4.135	1	0.042	0.820	0.678	0.993
民族								
维吾尔族								
汉族	0.767	0.168	20.859	1	0.000	2.153	1.549	2.992
哈族	0.773	0.231	11.225	1	0.001	2.167	1.378	3.406
其他	0.519	0.190	7.458	1	0.006	1.680	1.158	2.438
常数	-2.524	0.388	42.297	1	0.000	0.080		

■同行评价

本文对今后进一步研究新疆汉族、维族、哈族胆囊息肉的患病情况有一定指导意义。

计学意义。有关少数民族胆囊息肉患病率的报道极少。笔者认为汉族PLG患病率偏高,这可能与新疆地区的饮食不规律、不同环境、不同气候,高脂饮食、地下水水质及新疆与内地的时差因素有关,从内地迁居到新疆生活的人群早餐时间延迟2.5 h左右,与人体激素分泌高峰时间不同步也是一重要因素。哈族大部分都属于游牧民族,具有特殊的生活如放牧季节与非放牧季节饮食、生活方式、环境差异较大等。维族胆囊息肉患病率偏低可能与其民族生活方式如生活安逸、无紧张工作及精神压力、饮食习惯、特殊的民族文化等民族的不同特质有关。各少数民族的遗传基因可能也是另一个重要原因。因此各少数民族之间由于不同因素综合作用致使其胆囊息肉患病率存在一定差异。

本次调查结果发现总体PLG患病率男性明显高于女性,与许多文献报道一致^[14-20],而汉族及少数民族群体中哈族符合总体趋势。而维族及其他少数民族与性别不相关,这与Cha等^[21]的报道一致。男性PLG患病率较高的机制未见相关文献报告,这可能与男性分泌的激素影响胆囊内胆固醇代谢有关。分析结果提示不同性别总体胆囊息肉患病率随着年龄增长呈上升趋势至40-49岁达高峰(哈族例外,高峰期为50-59岁),这

与日本^[16]和台湾^[17]相关报道基本一致,而不同的是男性呈下降趋势,女性呈平稳趋势。这次调查结果与回顾性研究^[22]比较发现在中年人胆囊息肉患病率普遍较高,可能与中年人工作压力大,生活不规律,激素水平和免疫力处于变更期有关,调查发现高峰年龄之后又随年龄增长胆囊息肉患病率逐渐降低的真实原因还待阐明,但笔者认为随年龄增长超声检查发现胆囊结石患病率增加可能掩盖了胆囊息肉的检出,统计发现胆囊结石合并PLG的被调查者仅有14例,所占比例小,Myers等^[6]和Jørgensen等^[15]报道表明可能是由于可移动的胆囊结石对PLG产生机械性破坏作用或有胆囊结石的情况下超声很难辨别出PLG存在。

依据“2000年WHO提出亚洲成年人BMI正常范围为18.5-22.9 kg/cm²; >23为超质量,23-24.9 kg/cm²为肥胖前期,25-29.9 kg/cm²为肥胖,≥30为超胖^[23]进行BMI分组。而汉族、维族及其他民族PLG患病率与BMI无明显相关^[12,18]。其中在BMI≥25 kg/cm²(肥胖)组中仅哈族和总体PLG患病率高于非肥胖组,这与Segawa等^[16]研究结果一致,可能与放牧为生的哈族以肉和奶为主高脂食物为主特殊饮食习惯有关。但PLG患病率是否与BMI相关尚需要进一步研究。

本次研究提示多因素分析中不吃早餐与PLG的患病有关,可能的原因是经常不吃早餐情况下,胆汁排泄减少,使胆汁储留在胆囊内,最终胆汁中脂质代谢异常,特别是胆固醇代谢障碍,致生理状态下胆盐、胆固醇、卵磷脂三者在胆汁中成一定的比例溶解,正常平衡发生改变或在胆道系统的一些病理状态下,过饱和胆汁中的胆固醇主动和被动转运至胆囊黏膜上皮细胞,被巨噬细胞吞噬,最终变成泡沫细胞。待泡沫细胞积聚甚多时,泡沫状细胞在上皮嵴下的固有膜堆积向黏膜表面隆起呈单个或多个小息肉状结节并突入胆囊腔即形成胆固醇性息肉^[24,25]。

有关PLG的多民族患病情况及相关因素的文献报道较少,本研究发现各民族饮食差异较大,因而对于民族饮食因素的进一步研究对于降低胆囊息肉的发病率可能具有积极的指导意义。其他相关因素如吸烟、饮酒、饮茶、饮水情况等虽未能进入多因素Logistic模型,但尚不能完全排除其流行病学意义。

这次调查揭示新疆地区维族患病率低、男性多于女性、经常不吃早餐、肥胖和40-49岁高峰年龄段分布的临床流行病学特点,总体PLG的患病率处于较高水平。本研究虽然按照统计学标准进行随机抽样调查,因新疆少数民族多、地域分布广、气候差别大,此研究未覆盖所有地区,其他各少数民族因调查例数少,在统计分析中合并为其他民族,以后研究需进行新疆区域内多地区的联合协同调查研究,考虑更多的区域因素和民族因素,为新疆地区PLG的防治提供更充分的理论依据。

4 参考文献

- Lin WR, Lin DY, Tai DI, Hsieh SY, Lin CY, Sheen IS, Chiu CT. Prevalence of and risk factors for gallbladder polyps detected by ultrasonography among healthy Chinese: analysis of 34 669 cases. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 965-969 [PMID: 17725602 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05071.x]
- Kratzer W, Haenle MM, Voegtli A, Mason RA, Akinli AS, Hirschbuehl K, Schuler A, Kaechele V. Ultrasonographically detected gallbladder polyps: a reason for concern? A seven-year follow-up study. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 41 [PMID: 18793401 DOI: 10.1186/1471-230X-8-41]
- Aldouri AQ, Malik HZ, Waytt J, Khan S, Ranganathan K, Kummaraganti S, Hamilton W, Dexter S, Menon K, Lodge JP, Prasad KR, Toogood GJ. The risk of gallbladder cancer from polyps in a large multiethnic series. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 48-51 [PMID: 18339513 DOI: 10.1016/j.ejso.2008.01.036]
- Spaziani E, Petrozza V, Di Filippo A, Picchio M, Ceci F, Miraglia A, Moretti V, Briganti M, Greco E, Pattaro G, De Angelis F, Salvadori C, Stagnitti F. [Gallbladder polypoid lesions. Three clinical cases with difficult diagnosis and literature review]. *G Chir* 2010; 31: 439-442 [PMID: 20939951]
- Lee KF, Wong J, Li JC, Lai PB. Polypoid lesions of the gallbladder. *Am J Surg* 2004; 188: 186-190 [PMID: 15249249 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2003.11.043]
- Myers RP, Shaffer EA, Beck PL. Gallbladder polyps: epidemiology, natural history and management. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 187-194 [PMID: 11930198]
- 吴学民, 郑孝娟. 舟山市市区居民胆囊良性疾病的流行病学调查. *肝胆胰外科杂志* 2009; 21: 405-406
- 朱丹木, 陈怡, 许晓红, 周勇. 合肥地区胆囊疾病的流行病学调查. *中华普通外科杂志* 2002; 17: 271-272
- 吴婉清, 郑东升, 叶静萍, 黄凤照, 邱少东, 陈军初. 2006年广州市部分健康体检人群胆囊息肉发生情况分析. *华南预防医学* 2008; 34: 56-57
- 孙晓敏, 徐萍, 马志红, 程晓松, 朱佳莉, 柯桂钧, 任大宾. 上海松江地区胆囊良性疾病的流行病学调查 30901例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2881-2885
- 李秀明, 顾美红, 苏庆海, 冯武奇, 黄惠益. 腹部超声在健康体检中的应用价值. *右江民族医学院学报* 2008; 30: 1051-1052
- 张毅, 刘薇, 周静, 王伟, 王仁萍, 马先福, 王燕. 胆囊息肉样病变的临床流行病学特点及其易感性因素. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3081-3087
- 欧健苹, 苏凤璋. 超声检查脂肪肝与胆囊息肉的关系分析. *新医学* 2010; 41: 90-99
- Shinchi K, Kono S, Honjo S, Imanishi K, Hirohata T. Epidemiology of gallbladder polyps: an ultrasonographic study of male self-defense officials in Japan. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 7-10 [PMID: 8128179]
- Jørgensen T, Jensen KH. Polyps in the gallbladder. A prevalence study. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25: 281-286 [PMID: 2320947]
- Segawa K, Arisawa T, Niwa Y, Suzuki T, Tsukamoto Y, Goto H, Hamajima E, Shimodaira M, Ohmiya N. Prevalence of gallbladder polyps among apparently healthy Japanese: ultrasonographic study. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 630-633 [PMID: 1595653]
- Chen CY, Lu CL, Chang FY, Lee SD. Risk factors for gallbladder polyps in the Chinese population. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 2066-2068 [PMID: 9362194]
- Yang HL, Kong L, Hou LL, Shen HF, Wang Y, Gu XG, Qin JM, Yin PH, Li Q. Analysis of risk factors for polypoid lesions of gallbladder among health examinees. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3015-3019 [PMID: 22736927 DOI: 10.3748/wjg.v18.3015]
- Mao YS, Mai YF, Li FJ, Zhang YM, Hu KM, Hong ZL, Zhu ZW. Prevalence and risk factors of gallbladder polypoid lesions in Chinese petrochemical employees. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4393-4399 [PMID: 23885152]
- 闫有青, 任华, 张玉萍, 赵素焕, 温丽新. 健康体检中B型超声检查胆囊息肉样病变发生情况及相关因素分析. *中国当代医药* 2013; 20: 158-161
- Cha BH, Hwang JH, Lee SH, Kim JE, Cho JY, Kim H, Kim SY. Pre-operative factors that can predict neoplastic polypoid lesions of the gallbladder. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2216-2222 [PMID: 21633532 DOI: 10.3748/wjg.v17.i17.2216]
- 吕复君, 吕辉琴, 刘江伟. 兰州军区乌鲁木齐总医院近2005-2010年胆囊疾病构成分析. *中华临床医师杂志*

- (电子版) 2012; 6: 2979-2982
- 23 王义, 周哲, 田野, 邵强, 陈山, 洪宝发, 张祥华, 任向红, 孙文学, 王增武, 那彦群. 北京市社区中老年男性体重指数和前列腺特异性抗原相关性的多中心研究. 中华医学杂志 2009; 89: 1681-1683
- 24 Ivanchenkova RA, Sviridov AV, Grachev SV. [Pathogenesis of gallbladder cholesterolemia]. *Klin Med (Mosk)* 2002; 80: 14-19 [PMID: 11898714]
- 25 黄永峰, 董都选. 胆囊息肉123例临床分析. 陕西医学杂志 2009; 2: 239-240

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性

刘维新, 张 绅, 戴 聪, 任 益

■背景资料

通过比较炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)不同活动度及严重程度分级及分期血液学检查的常见指标的均数, 以使用最简单的办法早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。

刘维新, 张 绅, 戴 聪, 任 益, 中国医科大学第一医院消化内科
辽宁省沈阳市 110000

刘维新, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 课题由刘维新设计; 材料收集由刘维新、张绅及任益完成; 研究过程由刘维新、张绅、戴聪及任益操作完成; 研究所用分析工具由戴聪提供; 数据分析由张绅、戴聪及任益完成; 本论文写作由刘维新与张绅完成。

通讯作者: 刘维新, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科。

weixinliu@yahoo.com

电话: 024-83282563

收稿日期: 2013-07-25 修回日期: 2013-09-13

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Cong Dai, Yi Ren

Wei-Xin Liu, Shen Zhang, Cong Dai, Yi Ren, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Wei-Xin Liu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. weixinliu@yahoo.com

Received: 2013-07-25 Revised: 2013-09-13

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To explore the correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease (IBD).

METHODS: Clinical data for IBD patients and none-IBD patients were analyzed. Patients were divided into either a positive group or a control group. Hemoglobin (HGB), mean cell volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), platelets (PLT), mean platelet volume (MPV), red cell distribution width (RDW), cross-reacting protein (CRP), and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were detected, and their correlations with disease activity of IBD were analyzed.

RESULTS: HGB, MCV, MCHC and MPV had significant differences in patients with different levels of disease activity, and were negatively correlated with inflammatory activity ($r = -0.29, -0.30, -0.34, -0.38, -0.30, -0.33, -0.35, -0.36$, all $P < 0.05$). PLT, RDW, CRP and ESR also had significant differences in patients with different levels of disease activity, but was positively correlated with inflammatory activity ($r = 0.37, 0.66, 0.79, 0.77, 0.40, 0.71, 0.80, 0.77$, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Routine blood indexes are significantly different in patients with different levels of disease activity, which will be helpful to the diagnosis and evaluation of prognosis of IBD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Blood indexes; Disease activity

Liu WX, Zhang S, Dai C, Ren Y. Correlation between routine blood indexes and disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3654-3660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3654>

摘要

目的: 研究血液学检查的常见指标与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)炎症活动度及严重程度的相关性, 以使用最简单的办法, 早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。

方法: 回顾性收集诊断为IBD患者的住院资料, 随机选取198例IBD患者, 其中溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)120例, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)78例; 同时从非免疫性的胃肠道疾病患者和体检患者中随机选取90例。对选出共计288例患者临床检测的血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean

■同行评议者

秦成勇, 教授, 山东省立医院消化内科; 关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)指标进行分析统计, 通过对IBD患者和非IBD患者体内的表达差异, 评价以上指标与IBD炎症活动度及严重程度的相关性。

结果: HGB、MCV、MCHC、MPV在不同活动度及严重程度的IBD患者体内的水平改变存在显著差异, 其改变与炎症活动度呈负相关($r = -0.29$ 、 $r = -0.30$ 、 $r = -0.34$ 、 $r = -0.38$ 、 $r = -0.30$ 、 $r = -0.33$ 、 $r = -0.35$ 、 $r = -0.36$, $P < 0.05$); 不同活动度IBD患者体内RDW、PLT、CRP、ESR的水平差异具有显著性, 其表达与活动期病变程度呈正相关($r = 0.37$ 、 $r = 0.66$ 、 $r = 0.77$ 、 $r = 0.40$ 、 $r = 0.71$ 、 $r = 0.80$ 、 $r = 0.77$, $P < 0.05$)。

结论: 血液学常见的检测指标在炎症性肠病及非炎症性肠病的患者体内存在差异, 有助于早期的诊断, 亦可用于分析炎症活动度及严重程度, 从而指导治疗, 亦可用于评判治疗效果及疾病预后的评估。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 血液学指标; 炎症活动度

核心提示: 该研究证实血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)可作为判断溃疡性结肠炎炎症活动性的指标, 早期指导临床的诊断及治疗, HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为评价克罗恩病炎症活动性的指标。临床应用, 可通过简单的血液血常规检查, 早期筛检可疑患者进入进一步的诊疗程序, 避免漏诊, 今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果。

刘维新, 张坤, 戴聪, 任益. 血液学检查常见指标与炎症性肠病炎症活动度及严重程度的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(33):

3654-3660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3654>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是较为常见的消化系统疾病, 西方发达国家发病率较高, 但近年来IBD在我国的发病率较以往显著上升, 影响着人们的生活质量^[1]. IBD是一组慢性不明原因的肠道炎症性疾病的总和, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)及克罗恩病(Crohn's disease, CD), 临床均表现为反复发作的慢性病进程, 活动期与缓解期交替, 免疫抑制剂与激素治疗效果较好^[2]. 近年来的研究发现, 遗传、免疫、感染、环境等多种因素与IBD的发生密切相关, 医学科研人员证实, 肠道黏膜免疫系统的异常反应及紊乱是IBD发病的根本原因, 因此免疫抑制治疗或抗炎治疗有显著效果^[2,3]. 由于IBD自身的迁延不愈及反复发作等特点, 早期发现并控制病情尤为重要. 目前IBD的早期诊断, 主要依据炎症相关指标, 如血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C反应蛋白(C reactive protein, CPR)、ANCA、白介素(interleukin, IL)、 β 2-MG、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等^[4-10], 而一些更新的指标, 如细胞黏附分子、GAB、PAB、ALCA等指标也逐渐应用于IBD的诊断分型中^[11], 但这些检查在针对患者的初次检查中应用较少, 往往是第二轮的检查才会涉及, 凭借此类指标容易造成患者的漏诊, 而IBD患者临床表现不典型, 只有当疾病发展到较后期才会出现典型的全身临床表型, 最终通过肠镜活检确诊. 为了早期的诊断该类患者, 及早的开展治疗, 同时监测炎症活动度, 以便达到最优的治疗效果, 该研究在以往研究资料的基础上, 通过分析常见血液学检查指标与IBD的相关性, 探讨多指标与IBD与IBD炎症活动度的相关性, 以期早期确诊并分级诊断IBD患者, 指导临床治疗, 评价治疗效果, 评估疾病预后^[12-15].

1 材料和方法

1.1 材料 采用回顾性分析的研究方法, 随机选取于2006-10/2012-10我院收治的初发初治的IBD患者198例, 其中UC 120例, CD 78例, 排除合并其他系统自身免疫性疾病的患者, 同时随机选取正常体检者90例, 两组患者均排除糖尿病、肝炎、血液系统疾病、心脑血管疾病等影响血

■ 研发前沿

本文研究血液学检查的常见指标与IBD炎症活动度及严重程度的相关性, 以使用最简单的办法早期判定疾病的程度、确定疾病的治疗方案及评估疾病的预后。

■创新盘点

通过对不同IBD活动度及严重程度的炎症性肠病的常见血液学指标的研究,以帮助临床工作中早期班定疾病的程度,帮助进一步治疗。

表 1 入选患者一般情况

项目	性别比例(男/女)	年龄(岁)
溃疡性结肠炎	45/75	38.2 ± 17.5
克罗恩病	33/45	33.9 ± 16.0
体检	56/90	46.7 ± 24.1

液学指标的情况及其他慢性疾病,入院前未使用抗生素、5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)、糖皮质激素等药物^[16],入院患者均为成年人,基本资料如表1。所有患者以内镜下表现及病检结果确诊,内镜下可见黏膜糜烂、溃疡,可有结节状增生、铺路石样改变,瘻管、窦道形成;病检可见细胞水肿、炎细胞浸润,溃疡和非干酪样肉芽肿存在时认为疾病有活动性。所有患者根据临床表现、消化系钡餐、肠镜和病理检查确诊,诊断符合中华医学会消化病学分会2012年我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见。

1.2 方法

1.2.1 疾病分级: UC患者的疾病活动度评估采用改良的Mayo评分系统,如表2。评估后分数叠加,0-2分为缓解期,3-5分为轻度活动,6-10分为中度活动,11-12分为重度活动^[16]。受试者以自身为对照,评估排便情况,医师的总体评价包括受试者身体不适的感觉既回顾,生活总体幸福感,其他异常变项。120例初发患者,缓解期患者43例,轻度、中度、重度分别为17例、33例、27例,初治患者治疗药物选择5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)。CD患者的评价根据我国2012年炎症性肠病最新的诊断与治疗共识意见,采用Harvey和Bradshaw简化的克罗恩病活动指数(Crohn's disease activity index, CDAI)算法(表3)。评估后分数叠加,≤4分为缓解,5-8分为中度活动,≥9分为重度活动^[16]。缓解期患者39例,中度、重度分别为24例、15例,初治患者治疗药物选择5-ASA。

1.2.2 血液学指标: 患者空腹12 h后于第2天清晨采集肘正中静脉血,血液学的观察指标选取临床初检患者血常规涉及的指标,包括血红蛋白浓度(hemoglobin, HGB)、平均红细胞容积(mean cell volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、血小板计数(platelet, PLT)、平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)、红

胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、CPR、ESR。观察上述指标在IBD患者及非IBD患者体内的差异,分析不同的血液指标水平与炎症活动度的相关性。

统计学处理 结果以mean±SD的形式表示,率的比较采用 χ^2 检验,数值间的比较采用 t 检验,相关性分析采用Spearman相关分析法, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血液学检查指标与UC患者疾病活动度的关系 血液学检查结果在不同疾病活动度的UC患者体内及对照组中的表达情况如表4。HGB在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.29, P<0.05$); MCV在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.30, P<0.05$); MCHC在不同活动度UC患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.34, P<0.05$); RDW、CPR、ESR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈正相关($r = 0.37, P<0.05$)(图1, 2); 不同活动度UC患者体内PLT的表达水平相互比较,差异具有显著性,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与活动期病变程度呈正相关,相关系数($r = 0.66, P<0.05$); MPV在不同活动度UC患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.38, P<0.05$); CPR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈正相关($r = 0.79, P<0.05$); ESR在不同活动度UC患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈正相关($r = 0.74, P<0.05$)。

2.2 血液学检查指标与CD患者疾病严重程度的关系 血液学检查结果在不同疾病活动度的CD患者体内及对照组中的表达情况如表5。HGB在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.30, P<0.05$); MCV在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.33, P<0.05$); MCHC在不同活动度CD患者体

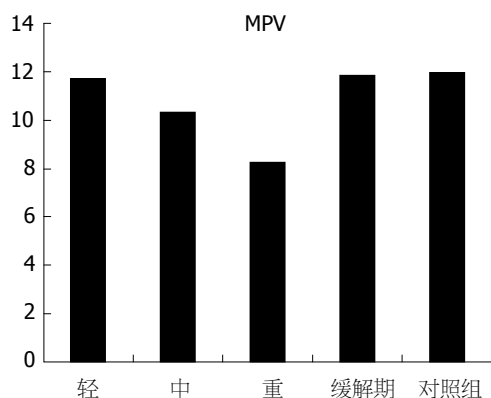


图 1 在不同活动度及严重程度分组的UC患者中MPV均值的表现. UC: 溃疡性结肠炎; MPV: 平均血小板体积.

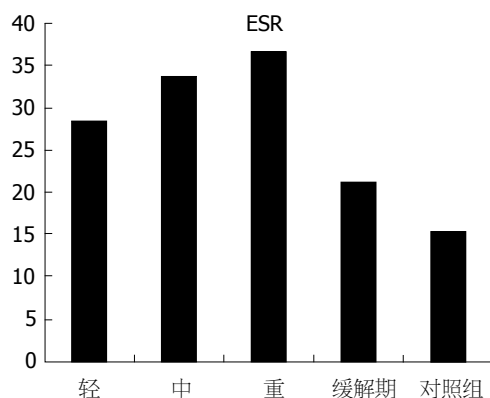


图 2 在不同活动度及严重程度分组的UC患者中ESR均值的表现. ESR: 血沉; UC: 溃疡性结肠炎.

应用要点

IBD的活动度及严重程度判定至关重要,对IBD的诊断越完整越有利于更好地选择治疗方案和评估预后.本文通过研究常见血液学检查指标与IBD病情活动度的关系,可在较少临床检查的条件下帮助临床医生进行早期的诊断,筛选患者,为IBD患者的早期治疗创造条件,今后也可应用于临床的预后评价及复诊,评价治疗效果.

表 2 溃疡性结肠炎患者疾病活动指数

评估项目	0分	1分	2分	3分
排便次数	正常	比正常增加1~2次/d	比正常增加3~4次/d	比正常增加5次/d
便血	未见	便中带血	大部分时间便中带血	一直存在
内镜发现	正常/无活动性病变	轻度(红斑、血管纹理减少、轻度易脆)	中度(明显红斑、血管纹理缺乏、易脆、糜烂)	重度(自发性出血、溃疡形成)
医师总体评价	正常	轻度病情	中度病情	重度病情

表 3 克罗恩病患者简化的CDAI算法

评估项目	评分
腹泻	稀便, 每日1次记为1分
腹块	无(0分); 可疑(1分); 确定(2分); 伴触痛(3分)
腹痛	无(0分); 轻(1分); 中(2分); 重(3分)
伴随疾病	每种症状记1分
一般情况	良好(0分); 稍差(1分); 差(2分); 不良(3分); 极差(4分)

内表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.35, P<0.05$); MPV在不同活动度CD患者体内表达存在显著差异,且均低于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈负相关($r = -0.36, P<0.05$); RDW在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈正相关($r = 0.40, P<0.05$);不同活动度CD患者体内PLT的表达水平相互比较,有显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与活动期病变程度呈正相关,相关系数 $r = 0.71, P<0.05$; CPR在不同活动度CD患者体内的表达存在显著差异,且均高于对照组, $P<0.05$,其表达与病变程度呈正相关($r = 0.80, P<0.05$); ESR在不同活动度CD患者体内

的表达存在显著差异,且均高于对照组($P<0.05$),其表达与病变程度呈正相关($r = 0.77, P<0.05$).

3 讨论

炎症性肠病在西方国家多发,我国近年来患者发病率增加,根据相关的研究报道指出,目前发病率在10/100000以上,成为消化系统常见的慢性疾病^[17]. IBD是由炎症及溃疡性改变导致的胃肠道系统疾病,起病隐匿,常为慢性发病表现,病程长,反复发作,可在数十年内反复缓解与发作,免疫治疗与激素治疗效果较好,但易耐受,且治疗无效后再次治疗,效果差,预后不良^[18,19]. IBD的发病机理复杂,目前的研究认为,多因素影响下的肠道免疫系统失衡,最终导致了针对自身免疫的发生,免疫效应的T细胞引起的炎症造成肠道病变部位的组织破坏,引起相应的临床表现^[20-25].

由于IBD是一类炎症性改变引起的疾病,因此既往的检查重点在于炎症相关的血液学指标,如白介素家族、血沉、C反应蛋白、MPO等,可以判断与IBD炎症活动度的相关性,预测治疗效果及预后.但此类检查在初诊患者中应用较少,不能及时有效的筛选IBD患者,且检查花费较多,因此本研究根据既往的研究结果,探索常见血

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 具有一定指导意义.

表 4 血液学检查指标与UC患者疾病活动度及严重程度的关系

分组	HGB(g/L)	MCV(fl)	MCHC(g/L)	PLT(10^9 /L)	MPV(fl)	RDW(%)	CRP	ESR
轻度	121.32 ± 15.36 ^a	89.15 ± 18.54	317.68 ± 9.50 ^c	181.25 ± 35.70 ^e	11.76 ± 2.71 ^g	12.8 ± 2.4 ⁱ	19.7 ± 7.5 ^k	28.69 ± 3.55 ^m
中度	116.68 ± 10.53 ^a	87.71 ± 11.84	306.90 ± 9.45 ^c	246.49 ± 51.22 ^e	10.37 ± 1.75 ^g	14.2 ± 3.7 ⁱ	35.4 ± 7.2 ^k	33.80 ± 4.59 ^m
重度	112.34 ± 13.83 ^a	87.12 ± 17.63	291.85 ± 30.14 ^c	320.15 ± 84.31 ^e	8.32 ± 0.96 ^g	15.9 ± 1.8 ⁱ	53.5 ± 12.1 ^k	36.90 ± 9.13 ^m
缓解期	125.33 ± 9.64 ^a	86.99 ± 9.80	326.85 ± 5.46 ^c	169.53 ± 32.75 ^e	11.89 ± 1.54 ^g	11.6 ± 2.0 ⁱ	15.4 ± 2.7 ^k	21.50 ± 3.78 ^m
对照组	129.32 ± 5.60	89.41 ± 15.22	330.10 ± 15.21	157.23 ± 15.54	11.97 ± 1.75	11.2 ± 3.5	5.8 ± 1.6	15.63 ± 5.62

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^g $P < 0.05$, ⁱ $P < 0.05$, ^k $P < 0.05$, ^m $P < 0.05$ vs 相应对照组. HGB: 血红蛋白浓度; MCV: 平均红细胞容积; MCHC: 平均红细胞血红蛋白浓度; PLT: 血小板计数; MPV: 平均血小板体积; RDW: 红细胞分布宽度; CPR: C反应蛋白; ESR: 血沉.

表 5 血液学检查指标与CD患者疾病活动度及严重程度的关系

分组	HGB(g/L)	MCV(fl)	MCHC(g/L)	PLT(10^9 /L)	MPV(fl)	RDW(%)	CRP	ESR
中度	111.15 ± 17.82 ^a	83.62 ± 10.44 ^c	310.60 ± 18.22 ^e	238.81 ± 31.59 ^g	9.77 ± 1.01 ⁱ	15.0 ± 2.5 ^k	39.5 ± 9.4 ^m	41.53 ± 10.32 ^o
重度	107.25 ± 24.71 ^a	81.93 ± 13.25 ^c	305.93 ± 26.59 ^e	326.01 ± 44.31 ^g	8.21 ± 1.66 ⁱ	16.3 ± 1.7 ^k	61.3 ± 22.1 ^m	48.46 ± 3.96 ^o
缓解期	124.89 ± 17.62 ^a	87.04 ± 12.50 ^c	328.11 ± 17.93 ^e	167.36 ± 21.14 ^g	11.42 ± 2.03 ⁱ	12.5 ± 1.1 ^k	13.8 ± 7.3 ^m	32.53 ± 4.88 ^o
对照组	129.32 ± 15.60	89.41 ± 15.22	330.10 ± 15.21	157.23 ± 15.54	11.97 ± 1.75	11.4 ± 1.6	9.5 ± 2.6	17.5 ± 6.55

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^g $P < 0.05$, ⁱ $P < 0.05$, ^k $P < 0.05$, ^m $P < 0.05$, ^o $P < 0.05$ vs 相应对照组. HGB: 血红蛋白浓度; MCV: 平均红细胞容积; MCHC: 平均红细胞血红蛋白浓度; PLT: 血小板计数; MPV: 平均血小板体积; RDW: 红细胞分布宽度; CPR: C反应蛋白; ESR: 血沉.

血液学检查指标与IBD炎症活动度的相关性, 以便能在初次检查诊断中有效的筛选IBD患者, 判断炎症活动度, 及早地开展治疗, 并在后续的治疗及随访中, 评价治疗效果, 进行预后的分析^[26-28].

常见的血液学检查指标较多, 根据文献查阅结果, 筛选出HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR作为研究对象, 横向对比其在IBD患者及非免疫性消化系统疾病患者体内的差异, 分析其与炎症活动的关系, 指导临床诊疗. 该研究证实: HGB、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为判断UC炎症活动性的指标, 早期指导临床的诊断及治疗, HGB、MCV、MCHC、PLT、MPV、RDW、CPR、ESR可作为评价CD炎症活动性的指标. 实验可见HGB、PLT、MPV比CRP更敏感. 临床应用, 可通过简单的血液血常规检查, 早期筛选可疑患者进入进一步的诊疗程序, 避免漏诊,

今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果, 但相应的机制需要进一步的探讨及研究, 以便更加明确IBD的发病机理及规律, 服务临床治疗.

IBD的治疗首先要掌握好分级、分期、分段治疗的原则: 分级治疗指确定疾病严重程度, 按轻、中、重不同程度采用不同药物及治疗方法; 分期治疗指活动期以控制症状为主要目标, 缓解期则应继续控制发作, 预防复发; 分段治疗指根据病变范围选择不同药物和治疗方法. 同时还强调包括支持、对症、心理治疗及营养治疗的综合应用; 对具体病例则十分强调个体化的处理原则^[29]. 所以IBD的活动度及严重程度至关重要, 对IBD的诊断越完整越有利于更好地选择治疗方案和评估预后, 中国最新的IBD诊疗规范共识意见中对此作了详细介绍^[30]. IBD治疗棘手, 病程反复, 虽经治疗可以缓解, 但远期治疗

效果差, 只有早期的诊断并及时的控制病情, 才能使患者获得较高的生活质量及较好的预后。

通过研究常见血液学检查指标与IBD病情活动度的关系, 可在较少临床检查的条件下帮助临床医生进行早期的诊断, 筛选患者, 为IBD患者的早期治疗创造条件, 今后也可应用于临床的预后评价及复诊, 评价治疗效果, 但相应的机制需要进一步的探讨及研究, 以便更加明确IBD的发病机制及规律, 服务临床治疗。但我们必须认识到, 所有的筛选检查都不能取代内镜病检, 高度怀疑IBD或者病情发作期的患者, 应及早行肠镜病检, 进行确诊后开展治疗。

4 参考文献

- Mizoguchi A, Mizoguchi E. Inflammatory bowel disease, past, present and future: lessons from animal models. *J Gastroenterol* 2008; 43: 1-17 [PMID: 18297430 DOI: 10.1007/s00535-007-2111-3]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-495
- Alex P, Zachos NC, Nguyen T, Gonzales L, Chen TE, Conklin LS, Centola M, Li X. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 341-352 [PMID: 18942757 DOI: 10.1002/ibd.20753]
- 邢亚威, 刘春玉, 王媛. 与炎症性肠病病情活动相关的因素. *临床荟萃* 2008; 23: 1519-1520
- Izcue A, Hue S, Buonocone S, Arancibia-Cárcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.019]
- Peyrin-Biroulet L, Reinisch W, Colombel JF, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Diamond R, Rutgeerts P, Tang LK, Cornillie FJ, Sandborn WJ. Clinical disease activity, C-reactive protein normalisation and mucosal healing in Crohn's disease in the SONIC trial. *Gut* 2013 Aug 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23974954 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304984]
- Graff LA, Clara I, Walker JR, Lix L, Carr R, Miller N, Rogala L, Bernstein CN. Changes in fatigue over 2 years are associated with activity of inflammatory bowel disease and psychological factors. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1140-1146 [PMID: 23602816 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.03.031]
- Kharitonov AG, Kondrashina EA, Baranovskii AI, Lapin SV, Bulgakova TV, Totolian AA. [The clinical immunologic characteristics of different variants of course of ulcer colitis]. *Klin Lab Diagn* 2013; (3): 22-26 [PMID: 23808021]
- Mahler M, Bogdanos DP, Pavlidis P, Fritzler MJ, Csernok E, Damoiseaux J, Bentow C, Shums Z, Forbes A, Norman GL. PR3-ANCA: a promising biomarker for ulcerative colitis with extensive disease. *Clin Chim Acta* 2013; 424: 267-273 [PMID: 23806819 DOI: 10.1016/j.cca.2013.06.005]
- Poli G, Biasi F, Leonarduzzi G. Oxysterols in the pathogenesis of major chronic diseases. *Redox Biol* 2013; 1: 125-130 [PMID: 24024145]
- 周利峰, 缪应雷. 炎症性肠病的生物学活性标志物的研究进展. *世界华人消化病杂志* 2011; 19: 3229-3236
- Rosenberg L, Nanda KS, Zenlea T, Gifford A, Lawlor GO, Falchuk KR, Wolf JL, Cheifetz AS, Goldsmith JD, Moss AC. Histologic markers of inflammation in patients with ulcerative colitis in clinical remission. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 991-996 [PMID: 23591275 DOI: 10.1016/j.cgh]
- Basseri RJ, Nemeth E, Vassilaki ME, Basseri B, Enayati P, Shaye O, Bourikas LA, Ganz T, Papadakis KA. Hepcidin is a key mediator of anemia of inflammation in Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e286-e291 [PMID: 23219355 DOI: 10.1016/j.crohns]
- Liu S, Ren J, Han G, Wang G, Gu G, Xia Q, Li J. Mean platelet volume: a controversial marker of disease activity in Crohn's disease. *Eur J Med Res* 2012; 17: 27 [PMID: 23058104 DOI: 10.1186/2047-783X-17-27]
- Hisamatsu T, Okamoto S, Hashimoto M, Muramatsu T, Andou A, Uo M, Kitazume MT, Matsuoka K, Yajima T, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Yamakado M, Sakai R, Ono N, Ando T, Suzuki M, Hibi T. Novel, objective, multivariate biomarkers composed of plasma amino acid profiles for the diagnosis and assessment of inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2012; 7: e31131 [PMID: 22303484 DOI: 10.1371/journal.pone.0031131]
- 沈骏, 殷洪敏, 冉志华, 周笑甜, 张尧, 蔡青. 炎症性肠病患者红细胞指数和血红蛋白的变化及其与疾病活动性的关系. *临床消化病杂志* 2008; 21: 18-20
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见. *中华消化杂志* 2012; 32: 796-813
- 欧阳钦, 胡品津, 钱家鸣, 郑家驹, 胡仁伟. 我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 32-35
- Ogino H, Nakamura K, Ihara E, Akiho H, Takayanagi R. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress Th17-responses in an experimental colitis model. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 376-386 [PMID: 20521112 DOI: 10.1007/s10620-010-1286-2]
- Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, Candelária PA. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC Res Notes* 2009; 2: 221 [PMID: 19874614 DOI: 10.1186/1756-0500-2-221]
- Filik L, Dagli U, Ulker A. C-reactive protein and monitoring the activity of Crohn's disease. *Adv Ther* 2006; 23: 655-662 [PMID: 17050508]
- Magro F, Araujo F, Pereira P, Meireles E, Diniz-Ribeiro M, Veloso FT. Soluble selectins, sICAM, sVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1265-1274 [PMID: 15387356]
- Wang LZ, Zhang YF, Tang BL, Yao KZ. Effects of intrathecal and i.v. small-dose sufentanil on the median effective dose of intrathecal bupivacaine for Caesarean section. *Br J Anaesth* 2007; 98: 792-796 [PMID: 17478452]
- Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res*

- 2009; 29: 2727-2737 [PMID: 19596953]
- 25 O'Connor PM, Lapointe TK, Beck PL, Buret AG. Mechanisms by which inflammation may increase intestinal cancer risk in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1411-1420 [PMID: 20155848 DOI: 10.1002/ibd.21217]
- 26 Orlando A, Guglielmi FW, Cottone M, Orlando E, Romano C, Sinagra E. Clinical implications of mucosal healing in the management of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2013 Aug 28. [Epub ahead of print] [PMID: 23993738 DOI: 10.1016/j.dld.2013.07.005]
- 27 Algaba A, Linares PM, Fernández-Contreras ME, Ordoñez A, Trápaga J, Guerra I, Chaparro M, de la Poza G, Gisbert JP, Bermejo F. Relationship between levels of angiogenic and lymphangiogenic factors and the endoscopic, histological and clinical activity, and acute-phase reactants in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e569-e579 [PMID: 23642997 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.04.005]
- 28 Samuel S, Bruining DH, Loftus EV, Thia KT, Schroeder KW, Tremaine WJ, Faubion WA, Kane SV, Pardi DS, de Groen PC, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Validation of the ulcerative colitis colonoscopic index of severity and its correlation with disease activity measures. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 49-54.e1 [PMID: 22902762 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.08.003]
- 29 蒋蔚茹. 炎症性肠病的认识与治疗进展. *上海医药* 2010; 31: 201-210
- 30 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 12: 488

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

锯齿状病变患者组织中*CDX2*基因启动子中上游区域的甲基化

许春伟, 王鲁平, 葛 畅, 张玉萍, 方 园

许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园, 中国人民解放军北京军区总医院病理科 北京市 100700
许春伟, 主要从事胃肠消化系统肿瘤的基础与临床研究。
首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 2011-5021-02
作者贡献分布: 主要实验、资料分析、统计及文章撰写由许春伟完成; 研究设计、文章修改及审阅由王鲁平完成; 资料分析、样本处理及生物信息学分析由葛畅、张玉萍及方园完成。
通讯作者: 王鲁平, 教授, 100700, 北京市东城区南门外大街5号, 中国人民解放军北京军区总医院病理科。bzwlp@yahoo.com
收稿日期: 2013-08-05 修回日期: 2013-09-12
接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-11-28

CDX2 upstream promoter methylation status in serrated lesions

Chun-Wei Xu, Lu-Ping Wang, Chang Ge, Yu-Ping Zhang, Yuan Fang

Chun-Wei Xu, Lu-Ping Wang, Chang Ge, Yu-Ping Zhang, Yuan Fang, Department of Pathology, General Hospital of Beijing Military Command of PLA, Beijing 100700, China

Supported by: the Capital Health Development Research Fund, No. 2011-5021-02

Correspondence to: Lu-Ping Wang, Professor, Department of Pathology, General Hospital of Beijing Military Command of PLA, 5 Nanmencang, Dongcheng District, Beijing 100700, China. bzwlp@yahoo.com

Received: 2013-08-05 Revised: 2013-09-12

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To detect *CDX2* gene methylation status and *CDX2* protein expression in serrated lesions to explore their clinical significance and role in carcinogenesis.

METHODS: Taqman probe qPCR (MethyLight) was used to detect *CDX2* gene CpG island methylation status in 225 cases of serrated lesions (including 96 cases of hyperplastic polyps, 61 cases of sessile serrated adenomas/polyps, and 68 cases of traditional serrated adenomas), 54 cases of tubular adenomas, 69 cases of colorectal cancer, and 42 cases of normal colorectal mucosa tissue. The amplified sequences were verified by direct sequencing. Immunohistochemistry was used to detect *CDX2* protein expression in 116

cases of serrated lesions (including 52 cases of hyperplastic polyps, 41 cases of sessile serrated adenomas/polyps, and 23 cases of traditional serrated adenomas), 20 cases of tubular adenomas, 24 cases of colorectal cancer, and 24 cases of normal colorectal mucosa tissue.

RESULTS: The rates of *CDX2* promoter methylation differed significantly between normal colorectal mucosa tissue and hyperplastic polyps ($P = 0.019$), sessile serrated adenomas/polyps ($P = 0.015$), and traditional serrated adenomas ($P = 0.002$), between colorectal cancer and hyperplastic polyps ($P = 0.000$), sessile serrated adenomas/polyps ($P = 0.000$) and traditional serrated adenomas ($P = 0.000$), and between tubular adenomas and traditional serrated adenomas ($P = 0.027$). The positive rates of *CDX2* protein differed significantly between colorectal cancer and hyperplastic polyps ($P = 0.001$), between tubular adenomas and hyperplastic polyps ($P = 0.005$), and between hyperplastic polyps and traditional serrated adenomas ($P = 0.038$). The rate of *CDX2* promoter methylation and *CDX2* protein expression had weak negative correlations among hyperplastic polyps ($P = 0.652$, $r = -0.064$), sessile serrated adenomas/polyps ($P = 0.238$, $r = -0.182$) and traditional serrated adenomas ($P = 0.519$, $r = -0.142$). The rate of *CDX2* gene promoter methylation was positively correlated with age in hyperplastic polyps ($P = 0.002$, $r = 0.312$), sessile serrated adenomas/polyps ($P = 0.000$, $r = 0.473$), traditional serrated adenomas ($P = 0.001$, $r = 0.392$), and tubular adenoma ($P = 0.001$, $r = 0.440$).

CONCLUSION: *CDX2* upstream promoter methylation status is complicated, and *CDX2* protein expression is little affected by *CDX2* upstream promoter methylation in serrated lesions. The rate of *CDX2* upstream promoter methylation in serrated lesions gradually increases as the age increases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: DNA methylation; *CDX2* gene; qPCR;

■背景资料

结直肠癌与锯齿状病变关系密切, 锯齿状癌变通路被认为是仅次于APC腺瘤-癌通路的第2条重要癌变通路。已知结直肠癌有DNA甲基化现象, 但锯齿状病变的DNA甲基化状况尚缺乏系统研究, 许多问题还不清楚, 为了解决这一问题, 本研究拟筛选出锯齿状病变和癌变的(caudal type homeobox transcription factor 2, *CDX2*)基因甲基化, 为锯齿状病变鉴别诊断, 早期发现癌前病变、预防结直肠癌提供新的生物标志物。为锯齿状病变分子分型及癌变机制奠定科学理论基础。

■同行评议者

赵青川, 教授, 主任医师, 京医院消化外科

■研究前沿

目前关于锯齿状病变甲基化的研究国内未见文献报道, 国外仅报道一篇, 该文运用MSP方法检测一组小样本的锯齿状病变的17个基因甲基化状况, 研究发现发现伴有/和不伴有异型增生的SSA检测到*CDX2*、*h-MLH-1*和*TLR2*基因甲基化, 但增生性息肉(hyperplastic polyp)没有检测到上述基因甲基化, 为后续的大样本验证研究奠定基础。

DNA probe; Serrated lesions

Xu CW, Wang LP, Ge C, Zhang YP, Fang Y. *CDX2* upstream promoter methylation status in serrated lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3661-3669 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3661>

摘要

目的: 观察锯齿状病变组织中*CDX2*基因甲基化状态和*CDX2*蛋白表达, 探讨临床病理意义和在癌变通路中的作用, 同时探讨*CDX2*基因在不同年龄层段甲基化状况。

方法: 应用Taqman探针qPCR(MethyLight)方法检测实验组225例锯齿状病变(包括96例增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、61例广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)和68例传统型锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA)、对照组54例管状腺瘤(tubular adenoma, TA)、69例结肠直肠癌(colorectal cancer, CRC)和42例正常组织中*CDX2*基因CpG岛甲基化状态, 并通过测序法验证扩增序列, 同时应用免疫组织化学方法检测实验组116例锯齿状病变(包括52例HP、41例SSA/P、23例TSA)、对照组20例TA、24例CRC和24例正常组织中*CDX2*蛋白的表达情况。

结果: *CDX2*基因启动子甲基化率在对照组正常组织与实验组HP($P = 0.019$)、SSA/P($P = 0.015$)和TSA($P = 0.002$), 对照组CRC与实验组HP($P = 0.000$)、SSA/P($P = 0.000$)和TSA($P = 0.000$), 对照组TA与实验组TSA($P = 0.027$)均有显著性差异; *CDX2*蛋白阳性率在对照组CRC与实验组HP($P = 0.001$), 对照组TA与实验组HP($P = 0.005$), 实验组HP和TSA($P = 0.038$)均有显著性差异; *CDX2*基因启动子甲基化率和*CDX2*蛋白阳性率的相关性比较中, 实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.652$, $r = -0.064$ (极弱相关); $P = 0.238$, $r = -0.182$ (极弱相关); $P = 0.519$, $r = -0.142$ (极弱相关), 但两者有负相关趋势; *CDX2*基因启动子甲基化频率和不同年龄层段相关性比较实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.002$, $r = 0.312$ (弱相关); $P = 0.000$, $r = 0.473$ (中等程度相关); $P = 0.001$, $r = 0.392$ (弱相关), 对照组TA中 $P = 0.001$, $r = 0.440$ (中等程度相关)。

结论: 组织中*CDX2*基因启动子中上游区域甲基化状态比较复杂, 极少部分甲基化状态可能有诱导*CDX2*蛋白表达下调, 在锯齿状通路的

发生发展中影响作用也甚微; 大部分甲基化可能随着年龄增加而逐渐增加。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: DNA甲基化; *CDX2*基因; qPCR; DNA探针; 锯齿状病变

核心提示: Caudal type homeobox transcription factor 2(*CDX2*)基因启动子中上游区域甲基化状态比较复杂, 大部分甲基化可能随着年龄增加而逐渐增加。

许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园. 锯齿状病变患者组织中*CDX2*基因启动子中上游区域的甲基化. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3661-3669 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3661>

0 引言

目前结肠直肠癌(colorectal cancer, CRC)已成为严重威胁人民健康的常见病和多发病, CRC在全球处于恶性肿瘤发病率第3位, 在我国目前处于第5位, 且发病率呈逐年上升趋势^[1]. 锯齿状病变是一组具有锯齿状结构的异质性上皮病变, 包括增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)、传统型锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA). 锯齿状病变通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌”这条锯齿状通路恶变成癌, 近年来越来越受国内外医学研究工作者们的关注. 新近研究发现, CRC中60%的来自普通腺瘤, 35%来自“增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌”这条锯齿状通路^[2]. 特别是锯齿状病变的CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotyp, CIMP). 锯齿状通路涉及一系列异常的表现遗传学改变^[3]. 这些异常改变中以DNA甲基化最常见. DNA异常甲基化分为A型和C型, 前者与年龄因素有关, 年龄越大, 甲基化频率越高, 后者与肿瘤相关, 通过引起相关基因表达下调或沉默, 促进肿瘤的发生发展^[4].

CDX2(caudal type homeobox transcription factor 2)是胃肠胚胎遗传通路中一种新发现的特异性的核转录因子, 是尾型同源框基因家族中的一员, 其基因及相关蛋白最早由Mlodzik等^[5]于1987年从果蝇中分离成功. 他与Parahox家族呈高度的同源性, 基因定位于人类染色体13号长臂1区2和3带(13q12-13). *CDX2*蛋白在胃肠胚胎遗传通路中发挥重要作用^[6]. 目前关于*CDX2*

基因的研究主要是在胃癌及胃肠化生方面, 关于CDX2基因在锯齿状病变的研究甚少, 尤其是甲基化方面的研究. 本研究通过MethyLight方法一方面分析锯齿状病变中CDX2基因启动子区CpG岛甲基化和免疫组织化学中CDX2蛋白的表达情况, 在基因层面和蛋白层面对CDX2进行初步探究; 另一方面分析锯齿状病变中CDX2基因启动子区CpG岛甲基化和年龄相关因素情况, 在甲基化和年龄上对CDX2进行初步探究.

1 材料和方法

1.1 材料 收集北京军区总医院2007-2013年病理诊断为各类结直肠息肉和腺瘤切片4810例, 从中筛选出腺体具有锯齿状特征的息肉及腺瘤, 进行组织学诊断及分类. 由3名病理医师按WHO(2010)消化系肿瘤分类及文献标准^[7-11]4-5轮回顾性阅片. 从中筛选出225例锯齿状病变(96例HP、61例SSA/P和68例TSA)作为实验组, 同时收集54例管状腺瘤(tubular adenoma, TA)、42例正常组织和69例CRC作为对照组, 并收集相关临床及内窥镜资料. DNA提取试剂盒购自德国QIAGEN公司; 甲基化修饰试剂盒为美国ZYMO公司产品; 核酸蛋白质浓度测量仪B-500购自上海创萌生物科技有限公司; 甲基化阳性/阴性对照为美国ZYMO公司产品; qPCR反应试剂ROX购自TaKaRa公司; Mix购自上海辉睿生物科技有限公司; CDX2抗体购自中杉金桥公司(1:500稀释); 内参基因 β -肌动蛋白(β -actin)引物和探针参照文献^[12]设计, 其引物序列上游引物: 5'-TGGTCATCCAGGTTTAGTAAGT-3', 下游引物: 5'-AACCAATAAACCTACTCCTCCCT-TAA-3', 探针: FAM 5'-ACCACCACCAACA-CACAATAACAAACACA-3' BHQ1. 甲基化引物和探针由上海辉睿生物科技有限公司合成. Mx3000P定量PCR扩增仪为美国Stratagene公司产品.

1.2 方法

1.2.1 甲基化引物和探针设计: CDX2基因序列参照GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), GenBank Accession: NC_000013. 甲基化引物和探针由Beacon Designer7.9软件设计, 其引物序列上游引物: 5'-AAACTACGCACTACTCTAAAC-GAAA-3', 下游引物: 5'-GTAGTTATAGTTT-GGCGGGGTTTG-3'; 探针: FAM 5'-CGA-CAACCTACGCCTAACCGACCTC-3' BHQ1. 设计标准: 引物扩增片段在80-150 bp, 引物长度

17-25 bp, GC含量在40%-70%, 两条引物的Tm值尽量接近. 避免引物内部或之间形成3 bp以上的互补序列. 探针长度20-30 bp, 探针的Tm值比引物高5 °C-10 °C, 探针内标或探针与引物之间避免形成3 bp以上的互补序列, 对其进行BLAST检查, 引物和探针符合要求, 并由上海辉睿生物科技有限公司合成.

1.2.2 DNA提取: 采用QIAamp DNA FFPE Tissue Kit试剂盒提取组织DNA, 将含有DNA组织的蜡块连切5张10 μ m的厚蜡膜, 严格按照试剂盒说明步骤进行操作. 并测定其纯度和浓度备用.

1.2.3 甲基化修饰: 采用EZ DNA Methylation-Gold™ Kit(D5005)试剂盒, 严格按照试剂盒说明步骤进行操作. 经此步后, DNA序列中未甲基化的胞嘧啶(C)转变为尿嘧啶(U).

1.2.4 MethyLight: PCR反应体系(20 μ L): 2 \times Taq PCR Master Mix 10 μ L; 修饰后的DNA模板2 μ L; 上、下游引物各1 μ L(10 pmol); 探针FAM 0.4 μ L(10 pmol); ROX 0.3 μ L. 反应条件: 94 °C预变性5 min; 94 °C 30 s, 56 °C 45 s, 72 °C 45 s, 共50个循环; 72 °C延伸5 min, 4 °C冷却5 min. 每例标本设两个复孔, 经亚硫酸氢盐修饰的Human Methylated & Non-methylated DNA Set作为阳性、阴性对照, 水为空白对照.

1.2.5 免疫组织化学染色: 所有标本常规石蜡包埋, 4 μ m厚连续切片, 60 °C温箱烘烤90 min. 采用EnVision二步法, 实验过程严格按照试剂盒说明书进行, 高温高压抗原修复, DAB显色, PBS代替一抗为阴性对照, 已知阳性的结肠腺体组织为阳性对照.

1.2.6 结果判断标准: MethyLight结果判断标准^[13]: 同时扩增目的基因(CDX2)和内参基因(β -actin), 根据标准曲线得到两者的原始拷贝数, 计算标准甲基化指数(the normalized index of methylation, NIM)其定义为: $NIM = [(CDX2 \text{ sample}/CDX2 \text{ positive})/\beta\text{-actin sample}/\beta\text{-actin positive}] \times 100$, 其中CDX2 sample指样本中甲基化CDX2基因的拷贝数, CDX2 positive指阳性对照中甲基化CDX2基因的拷贝数, β -actin sample和 β -actin positive与上述相同. $NIM \geq 4$ 为甲基化, $NIM < 4$ 为非甲基化. 免疫组织化学判断标准: CDX2阳性定位于细胞核; 标记指数计算方法^[14]: 每张切片低倍镜下选择组织结构良好、比较清晰的5个阳性细胞最为密集的区域, 每个区域在高倍镜下, 计数100个细胞中的阳性细胞指数(不包括间质细胞和其他非肿瘤细胞), 计

■ 相关报道

自本世纪初, 国内王鲁平教授团队在结直肠锯齿状病变研究方面一直处于领先水平. 其团队率先描述了锯齿状病变形态学特点、免疫组织化学特征以及分子生物学改变, 并在国内外首先报告了锯齿状病变中Runx3基因rs2236851位点基因型检测及蛋白表达. DNA甲基化研究是继基因多态性后在锯齿状病变的后续研究. 目前王鲁平教授团队在锯齿状病变研究方面发表中英文论文80余篇.

■创新盘点

首次选用一组与结直肠癌甲基化有关的基因,用于检测根据最新分类的各类结直肠癌锯齿状病变甲基化状况,从中筛选出各类病变相关甲基化基因,为锯齿状病变的诊断及分子分型提供有力的生物标志物,为锯齿状癌前病变提供预测指标,为锯齿状甲基化癌变机制及靶向治疗提供理论依据。*CDX2*是胃肠胚胎遗传通路中一种新发现的特异性的核转录因子,是尾型同源框基因家族中的一员。本研究在国内外首次提出*CDX2*基因甲基化主要与年龄因素有关,年龄越大,甲基化频率越高,其可能是一个年龄相关性甲基化基因。

表1 *CDX2*基因CpG岛甲基化阳性率统计结果

病理类型	n	<i>CDX2</i> 基因CpG岛甲基化		
		甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
正常	42	22	20	53.38
TA	54	34 ^a	20	62.96
HP	96	70 ^{a,c}	26	72.97
SSA/P	61	46 ^{a,c}	15	75.41
TSA	68	55 ^{a,c}	13	80.88
CRC	69	69	0	100.00
χ^2			54.892	
P值			0.000	

^a $P<0.05$ vs 正常组; ^c $P<0.05$ vs CRC组。TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

算阳性细胞数平均值的百分率。标记指数计分: I级10%-25%为1分, II级26%-50%为2分, III级51%-75%为3分, IV级76%-100%为4分。染色强度计分: I级淡黄色为1分, II级棕黄色为2分, III级棕褐色为3分。每张切片两种评分之乘积为该切片最后的表达强度: 1-3分为(+), 4-6分为(++), ≥ 8 分为(+++)。

统计学处理 所有数据采用SPSS19.0统计软件, 甲基化结果和免疫组织化学结果运用 χ^2 及Fisher确切概率法, 两组间比较运用Bonferroni检验, 甲基化和蛋白表达相关性及甲基化和年龄相关性运用Pearson相关法进行统计学处理, 检验水准 $\alpha = 0.05$, 并设定P值为双侧分布, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料特征 225例锯齿状病变中HP 96例、SSA/P 61例、TSA 68例, 分别占锯齿状病变的42.67%, 27.11%和30.22%。96例HP中, 男性63例, 女性33例, 男性多见, 年龄31-88岁, 平均年龄 56.052 ± 12.448 岁; 61例SSA/P中, 男性43例, 女性18例, 男性多见, 年龄23-84岁, 平均年龄 56.665 ± 14.976 岁; 68例TSA中, 男性46例, 女性22例, 男性多见, 年龄30-85岁, 平均年龄 59.470 ± 12.506 岁。

2.2 *CDX2*基因标准曲线分析 将阳性对照按10的倍数稀释成 $1-1 \times 10^{-6}$ 7个浓度梯度制作标准曲线(其拷贝数为 10^3-10^9 /mL), 各浓度梯度反应均做复孔。MethyLight的线性范围为 10^4-10^8 拷贝/mL, R^2 为0.942。

2.3 *CDX2*基因启动子CpG岛甲基化 *CDX2*基

因启动子CpG岛甲基化率在正常、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC分别为53.38%(22/42)、62.96%(34/54)、72.97%(70/96)、80.88%(55/68)、75.41%(46/61)和100%(69/69)。实验组HP和对照组正常、CRC之间有显著性差异($P<0.05$), 实验组HP和对照组TA之间差异不显著($P>0.05$); 实验组HP和实验组SSA/P及TSA之间差异不显著($P>0.05$); 实验组SSA/P和对照组正常、CRC之间有显著性差异($P<0.05$), 实验组SSA/P和实验组HP、TSA及对照组TA之间差异不显著($P>0.05$); 实验组TSA与对照组正常、TA、CRC之间有显著性差异($P<0.05$), 与实验组HP、SSA/P之间差异不显著($P>0.05$)(表1, 图1)。

2.4 测序法验证扩增序列 PCR扩增产物送北京金唯智生物科技有限公司测序, 由于扩增序列(91 bp)过小, 连接到质粒作为载体后, 用通用引物的方法测序, 比对测序目的片段和Beacon Designer 7.9软件设计序列吻合(图2)。

2.5 *CDX2*蛋白表达状况 *CDX2*蛋白阳性表达率在正常、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC分别为100%(24/24)、75.00%(15/20)、98.07%(51/52)、87.80%(36/41)、82.61%(19/23)和70.83%(17/24)。实验组HP与对照组TA、CRC和实验组TSA之间有显著性差异($P<0.05$), 与对照组正常和实验组SSA/P差异性不显著($P>0.05$); 实验组SSA/P与对照组正常、TA、CRC和实验组HP、TSA差异性不显著($P>0.05$); 实验组TSA与对照组正常、TA、CRC和实验组HP、TSA差异性不显著($P>0.05$)(表2, 图3)。

2.6 *CDX2*基因甲基化与*CDX2*蛋白相关性分析 经统计学分析显示: HP、SSA/P、TSA四组中*CDX2*甲基化与*CDX2*蛋白表达结果差异不显著($P>0.05$), 但有负相关趋势, 相关系数分别为 $r = -0.064$ 、 $r = -0.182$ 、 $r = -0.142$ (表3)。

2.7 *CDX2*基因甲基化与年龄相关性分析 经统计学分析显示: TA、HP、SSA/P、TSA 4组中*CDX2*基因甲基化与年龄差异均显著($P<0.01$)。年龄20-40岁组甲基化率稳定在20%-40%之间, 年龄41-60岁组甲基化率稳定在70%-80%之间, 年龄超过60岁组甲基化率稳定在80%以上。*CDX2*基因甲基化与年龄相关性为正相关, 与TA、HP、SSA/P、TSA相关系数分别为 $r = 0.440$ 、 $r = 0.312$ 、 $r = 0.473$ 、 $r = 0.392$ (表4-7)。

3 讨论

CRC是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 全球

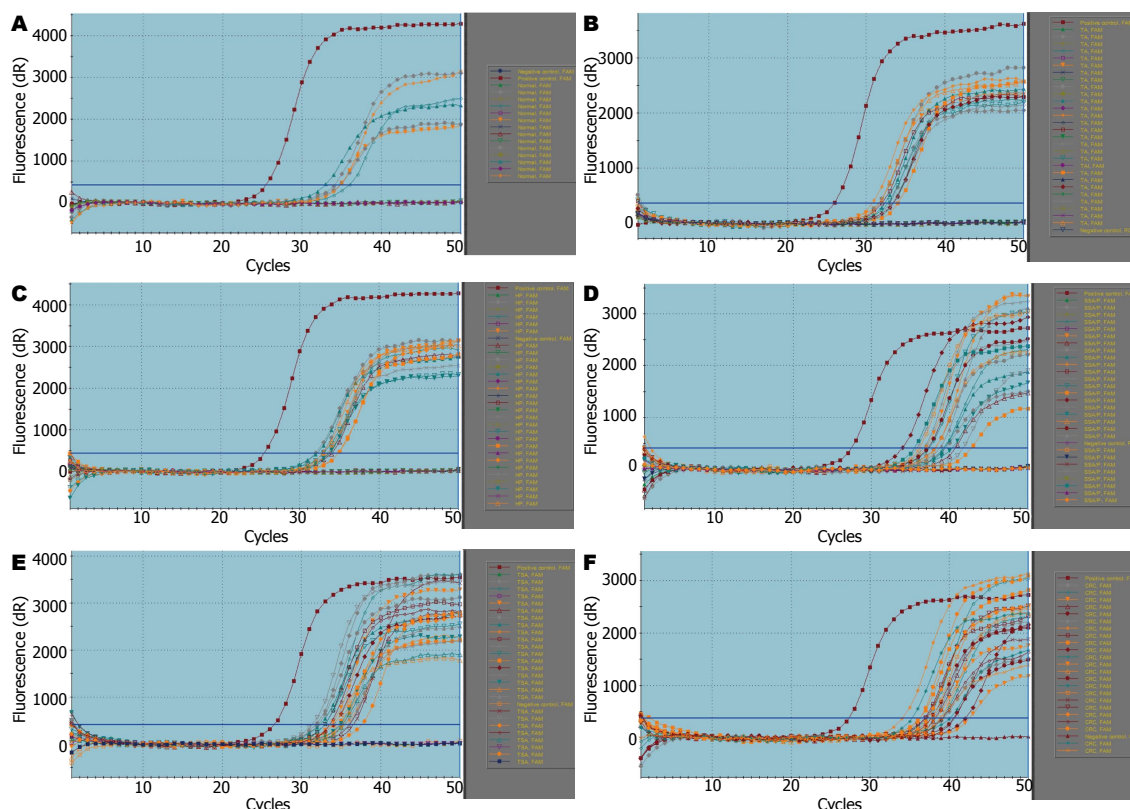


图 1 经亚硫酸氢盐修饰后的扩增曲线. A: 经亚硫酸氢盐修饰后正常组织扩增曲线; B: 经亚硫酸氢盐修饰后TA扩增曲线; C: 经亚硫酸氢盐修饰后HP扩增曲线; D: 经亚硫酸氢盐修饰后SSA/P扩增曲线; E: 经亚硫酸氢盐修饰后TSA扩增曲线; F: 经亚硫酸氢盐修饰后CRC扩增曲线.

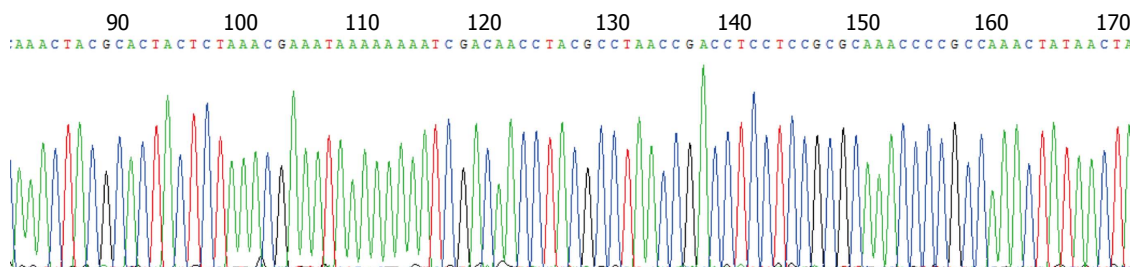


图 2 CDX2基因扩增片段测序图. 图中甲基化片段中CpG二核苷酸的胞嘧啶保持不变.

CRC每年新发病例数达123万例, 死亡约为发病率的1/2. 近年研究表明, CRC发病率目前仍呈持续增长态势, 其原因之一就是结直肠锯齿状病变认识不足^[3,15]. 2010年WHO消化系肿瘤病理学和遗传学分类中对锯齿状病变的分类比以往更为详细^[7], HP在锯齿状病变中最常见, 占有病变的75%以上, 根据组织学上黏液的不同分为微泡型增生性息肉(microvesicular hyperplastic polyp, MVHP)、富于杯状细胞型增生性息肉(goblet-cell rich hyperplastic polyp, GCHP)、黏液缺乏型增生性息肉(mucin-poor type, MPHP)^[16]. SSA/P占锯齿状病变的15%-25%, 根据细胞异型性分为伴/不伴有细胞异型增生^[16-18]. TSA不常

见, 占锯齿状病变的1%左右, 特征为具有整体复杂结构与纤维状生长方式, 常显示细胞异型特点, 与TA及伴细胞异型的SSA不同^[16,19]. TSA一般与高MSI癌无关, 可能与低MSI有关^[10]. 近年来从分子遗传学角度对锯齿状病变进行研究发现, 结直肠锯齿状病变通路是一个多因素、多阶段、多基因连续累积发生的过程, 在此演变过程中有众多CRC相关基因参与, 具体的发病机制迄今未完全明了. 但这些基因发生的甲基化、基因杂合子丢失(loss of heterozygosity, LOH)等异常改变导致锯齿状病变的发生发展^[20-22]. 锯齿状通路中有众多异常基因甲基化, 若能深入研究并加以利用, 不仅可以用于CRC的早期诊断、高

应用要点

本文发现CDX2基因在正常组织甲基化率53.38%, 且其与CDX2蛋白阳性率的相关性比较中虽为负相关, 但相关性极弱, 所以笔者认为CDX2基因启动子上游区域甲基化是否真正起到诱导CDX2蛋白表达降低, 还是磷酸化或其他未知因素才是真正诱导CDX2蛋白表达降低, 这有待进一步探究, 下一步实验我们将在HT-29和Lovo结直肠癌细胞株中通过加入去甲基化抑制剂去验证CDX2蛋白是否逆转.

■同行评价
本文具有一定指
导意义。

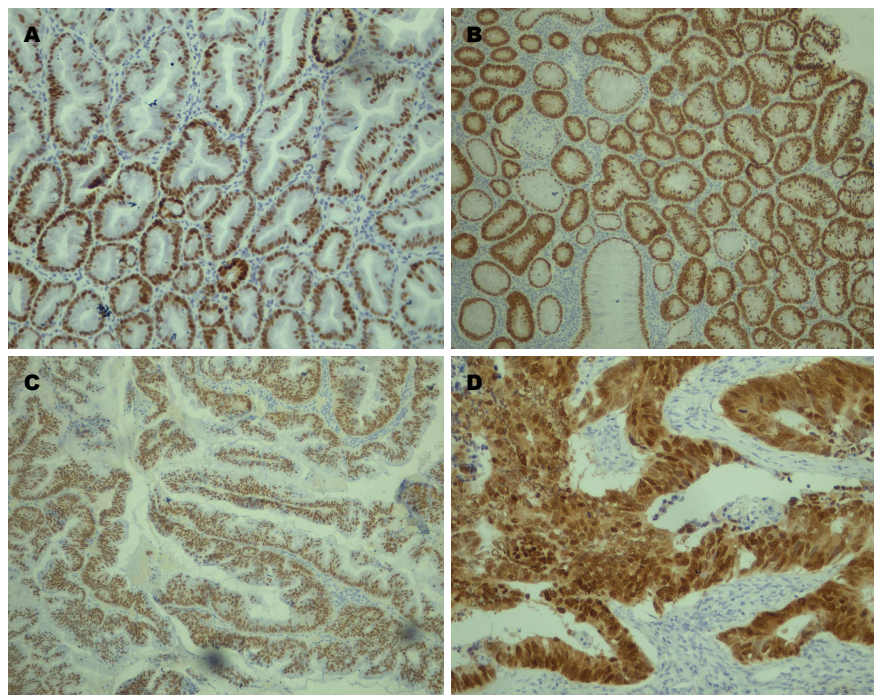


图3 EnVision二步法免疫组织化学结果. A: HP中CDX2阳性表达, 阳性表达定位于细胞核(×200); B: SSA/P中可见细胞核CDX2呈+(×200); C: TSA腺体中CDX2腺体细胞核呈+(×200); D: CRC呈(++)(×400). TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

表2 CDX2蛋白表达阳性率统计结果

病理类型	n	CDX2蛋白		
		(+)-(+++)	(-)-(-/+)	阳性率(%)
正常	24	24	0	100.00
TA	20	15	5	75.00 ^a
HP	52	51	1	98.07
SSA/P	41	36	5	87.80
TSA	23	19	4	82.61 ^a
CRC	24	17	7	70.83 ^a
χ^2		21.699		
P值		0.001		

^a $P < 0.05$ vs 正常组. TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

危人群的监测、癌变风险评估等, 还可为CRC靶向治疗药物提供理论依据支持^[2,23]。

本实验研究中发现正常组织、TA、HP、SSA/P、TSA和CRC中均有CDX2基因启动子CpG岛中上游区域的甲基化, 实验组锯齿状病变HP、SSA/P和TSA甲基化率为72.97%(70/96)、75.41%(46/61)和80.88%(55/68), 对照组正常组织、TA和CRC的甲基化率为53.38%(22/42)、62.96%(34/54)和100%(69/69), 经统计学处理有显著性差异. Dhir等^[23]在18例TA中检测到甲基

化率为52.9%, 29例不伴异型性的SSA/P中检测到甲基化率为66.67%, 19例伴有异型性的SSA/P中检测到甲基化率为73.68%, 但在9例HP中未检测到甲基化, 我们研究中对照组的TA和实验组的SSA/P的甲基化率与以上研究结果基本符合, 但实验组HP的甲基化率72.97%, 与以上研究结果出入较大, 可能与样本量、样本来源、引物在CpG岛的位置不同等因素有关. 本研究对照组与实验组组间比较过程中, 对照组正常组织与实验组HP($P = 0.019$)、SSA/P($P = 0.015$)和TSA($P = 0.002$)有显著性差异, 对照组CRC与实验组HP($P = 0.000$)、SSA/P($P = 0.000$)和TSA($P = 0.000$)有显著性差异, 对照组TA与实验组TSA($P = 0.027$)有显著性差异, 与实验组HP($P = 0.204$)和SSA/P($P = 0.148$)差异性均不显著; 实验组与实验组组间比较过程中, HP和SSA/P($P = 0.729$), HP和TSA($P = 0.238$)及SSA/P和TSA($P = 0.452$)组间差异性均不显著。

运用免疫组织化学方法研究中发现实验组HP、SSA/P和TSA蛋白表达阳性率为98.08%(51/52)、87.80%(36/41)和82.61%(19/23), 对照组正常组织、TA和CRC中蛋白表达阳性率为100%(24/24)、75.00%(15/20)和70.83%(17/24). 与Mochizuka等^[24]对15例HP, 29例SSA/P, 12例TSA和16例TA结果不符, 在本实

表 3 HP组、SSA/P组和TSA组中CDX2蛋白表达与CDX2甲基化情况

类型		HP			SSA/P			TSA		
		CDX2		合计	CDX2		合计	CDX2		合计
		(+)-(+++)	(-)-(-/+)		(+)-(+++)	(-)-(-/+)		(+)-(+++)	(-)-(-/+)	
CDX2	甲基化	42	1	43	30	5	35	17	4	21
	非甲基化	9	0	9	6	0	6	2	0	2
合计		51	1	52	36	5	41	19	4	23
P、值		$P = 0.652, r = -0.064$			$P = 0.238, r = -0.182$			$P = 0.519, r = -0.142$		

TA: 管状腺瘤; HP: 增生性息肉; SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉; TSA: 传统型锯齿状腺瘤; CRC: 结直肠癌。

表 4 HP组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	8	2	6	25.00
41-60	54	39	15	72.22
≥61	34	29	5	85.29
P、r值	$P = 0.002, r = 0.312$			

HP: 增生性息肉。

表 5 TA组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	3	0	6	0.00
41-60	27	14	13	51.85
≥61	24	20	4	83.33
P、r值	$P = 0.001, r = 0.440$			

TA: 管状腺瘤。

表 6 SSA/P组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	9	2	7	22.22
41-60	23	18	5	78.26
≥61	29	26	3	89.66
P、r值	$P = 0.000, r = 0.473$			

SSA/P: 广基(无蒂)锯齿状腺瘤/息肉。

表 7 TSA组年龄与甲基化相关性情况

分组	n	甲基化	非甲基化	甲基化率(%)
年龄(岁)				
20-40	8	3	5	37.50
41-60	19	15	4	78.95
≥61	41	37	4	90.24
P、r值	$P = 0.001, r = 0.392$			

TSA: 传统型锯齿状腺瘤。

验中HP和SSA/P表达明显高于TSA和TA, 具体原因可能与样本量、样本来源等因素有关。本研究对照组与实验组组间比较过程中, 对照组正常组织与实验组HP($P = 1.000$)、SSA/P($P = 0.194$)和TSA($P = 0.104$)差异性不显著, 对照组CRC与实验组HP($P = 0.001$)有显著性差异, 但SSA/P($P = 0.089$)和TSA($P = 0.341$)差异性不显著, 对照组TA与实验组HP($P = 0.005$)有显著性差异, 但与实验组SSA/P($P = 0.205$)和TSA($P = 0.813$)差异性均不显著; 实验组与实验组组间比较过程中, HP和TSA($P = 0.038$)有显著性差异, 但在HP和SSA/P($P = 0.729$)及SSA/P和TSA($P = 0.452$)中组间差异性均不显著。

在本实验CDX2基因甲基化与蛋白表达相

关性研究中, 我们发现在实验组HP、SSA/P和TSA中 $P = 0.652, r = -0.064$ (极弱相关); $P = 0.238, r = -0.182$ (极弱相关); $P = 0.519, r = -0.142$ (极弱相关), TA中 $P = 0.217, r = -0.289$ (弱相关)。通过数据我们可以看出无论实验组还是对照组, 基因甲基化和蛋白表达差异性都不是非常显著, 相关性也呈弱相关或极弱相关。通过基因甲基化和蛋白表达及两者相关性的探究, 我们推测在锯齿状病变通路中CDX2基因启动子中上游区域极少部分甲基化有诱导CDX2蛋白表达下调, 在锯齿状通路的发生发展中影响也甚微。

So等^[25]研究人正常的胃上皮细胞中的中p16、RUNX3、TIG1和LOX这4个基因的启动子甲基化状况后发现启动子甲基化与年龄密切

相关。Waki等^[26]研究来源于小肠、大肠、胃等不同器官或组织的甲基化相关基因如*Runx3*、*E-cadherin*、*GSTP1*、*DAP-kinase*、*p16*、*h-MLH-1*等,发现在32岁以前的个体中,其启动子CpG岛几乎不出现甲基化,但在42岁后,基因启动子CpG岛均以组织特异性的方式发生不同程度的甲基化。本实验研究在实验组和对照组32岁以前的个体中均未发现此位点甲基化,但在42岁以后的个体发现此位点不是每个个体在此区域的位点均发生甲基化,但随着年龄增高,此位点甲基化频率增高,这些都与Waki等得出的结论相符。

另外卢筱洪等^[27]通过RT-PCR发现经5'-aza-dC和/或SAHA处理前后,无论在TC7或HT29结直肠癌细胞株中,CDX2的表达均未发生影响,认为去甲基化药物5'-aza-dC和/或组蛋白去乙酰化酶抑制剂SAHA均不能刺激CDX2的表达发生变化,同时观察在甲基饮食缺乏组和正常对照组大鼠大肠组织中,RT-PCR显示CDX2均表达,且表达无显著性差异,但两组大鼠大肠组织免疫组织化学染色显示:甲基饮食缺乏组CDX2表达低于对照组,最后又Western blot显示,两组大鼠大肠组织中,在甲基饮食缺乏组中,主要表达磷酸化的CDX2蛋白,而在对照组中,则以未磷酸化的CDX2蛋白为主。因此他们得出结论:CDX2的表达不受表遗传修饰(DNA甲基化,组蛋白乙酰化)的调控,而可能与转录后调节机制如CDX2蛋白的磷酸化有关。Boulanger等^[28]在通过实验发现,CDX2在细胞核中表达,并通过一定载体运送到胞质中被降解,而这个过程需要Cdk2(cyclin-dependent kinase 2)和CRM1(chromosome region maintenance 1)等因子的参与。在Cdk2的诱导CDX2发生磷酸化修饰,磷酸化修饰后的CDX2表达显著下降,同时抑制胞质中的CRM1,激活Cdk2,结果胞质中CDX2降解,核输出也逐渐减少。相反,激活CRM1,抑制Cdk2,CDX2表达增加,核输出也增加。所以他们认为Cdk2的活性主要受蛋白激酶的负向调控,但具体机制未明确。Kawai等^[29]通过实验也发现,通过亚硫酸氢钠-限制性酶切法检测出CDX2基因启动子上游的CpG岛序列,发现上游的CpG岛都已明显甲基化,但他们与CDX2的表达无关,而在下游的CpG岛,虽然只有少数的结直肠癌细胞系有甲基化现象,但他们却直接与CDX2的表达有关,即CDX2启动子下游发生甲基化则引起

CDX2表达明显下降。通过MSP发现在原发肠道肿瘤中有40%的病例可出现CDX2的甲基化。所以我们认为CDX2基因启动子中上游甲基化是否真正起到诱导CDX2蛋白表达降低,还是磷酸化或其他未知因素才是真正诱导CDX2蛋白表达降低,这有待进一步探究,下一步实验我们将在HT-29和Lovo结直肠癌细胞株中通过加入去甲基化抑制剂验证CDX2蛋白是否逆转。

4 参考文献

- 1 赖少清,鞠凤环,王贵齐,王贵齐,贺舜,倪晓光,张蕾,于桂香,张月明,李晓燕. 2004-2008年704例大肠癌临床流行特征. 中国肿瘤 2010; 19: 111-113
- 2 Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 1-10 [PMID: 20869746 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.002]
- 3 Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology* 2007; 50: 131-150 [PMID: 17204027 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02548.x]
- 4 Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002; 123: 862-876 [PMID: 12198712]
- 5 Mlodzik M, Gehring WJ. Expression of the caudal gene in the germ line of *Drosophila*: formation of an RNA and protein gradient during early embryogenesis. *Cell* 1987; 48: 465-478 [PMID: 2433048]
- 6 James R, Erler T, Kazenwadel J. Structure of the murine homeobox gene *cdx-2*. Expression in embryonic and adult intestinal epithelium. *J Biol Chem* 1994; 269: 15229-15237 [PMID: 7910823]
- 7 Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P. Carcinoma of the colon and rectum. WHO Classification of Tumors of the Digestive System. Pathology and Genetics Tumours and Digestive System. 4th edition. Switzerland: WHO press, 2010: 134-146, 160-165
- 8 王鲁平,杨光之,周志勇,李琳,高宝琳,陈健. 结直肠锯齿状病变104例形态学及细胞增殖活性的观察. 中华病理学杂志 2009; 38: 100-105
- 9 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318157f002]
- 10 East JE, Saunders BP, Jass JR. Sporadic and syndromic hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colon: classification, molecular genetics, natural history, and clinical management. *Gastroenterol Clin North Am* 2008; 37: 25-46, v [PMID: 18313538 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.12.014]
- 11 王鲁平,陈健. 与癌密切相关的结直肠广基锯齿状腺瘤(SSA)的概念及病理诊断要点. 诊断病理学杂志 2008; 15: 84-87
- 12 Ogino S, Kawasaki T, Brahmandam M, Cantor M, Kirkner GJ, Spiegelman D, Makrigiorgos GM, Weisenberger DJ, Laird PW, Loda M, Fuchs CS. Precision and performance characteristics of bisulfite conversion and real-time PCR (MethyLight) for quantitative DNA methylation analysis. *J Mol Diagn* 2006; 8: 209-217 [PMID: 16645207 DOI: 10.2353/jmoldx.2006.050135]
- 13 Eads CA, Lord RV, Kurumboor SK, Wickramasing-

- he K, Skinner ML, Long TI, Peters JH, DeMeester TR, Danenberg KD, Danenberg PV, Laird PW, Skinner KA. Fields of aberrant CpG island hypermethylation in Barrett's esophagus and associated adenocarcinoma. *Cancer Res* 2000; 60: 5021-5026 [PMID: 11016622]
- 14 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准. *中国癌症杂志* 1996; 229-231
- 15 赵娜, 杨廷翰, 郝晋, 蒲怡, 汪晓东, 李立. 高风险结直肠癌患者快速流程模式的临床应用. *中国现代普通外科进展* 2011; 14: 269-272
- 16 Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 65-81 [PMID: 12502929]
- 17 Goldstein NS, Bhanot P, Odish E, Hunter S. Hyperplastic-like colon polyps that preceded microsatellite-unstable adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 778-796 [PMID: 12817424 DOI: 10.1309/DRFQ-0WFU-F1G1-3CTK]
- 18 Spring KJ, Zhao ZZ, Karamatic R, Walsh MD, Whitehall VL, Pike T, Simms LA, Young J, James M, Montgomery GW, Appleyard M, Hewett D, Togashi K, Jass JR, Leggett BA. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterology* 2006; 131: 1400-1407 [PMID: 17101316 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.038]
- 19 Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, Batts KP. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 380-391 [PMID: 16191506 DOI: 10.1309/V2EP-TPLJ-RB3F-GHJL]
- 20 Kaji E, Uraoka T, Kato J, Hiraoka S, Suzuki H, Akita M, Saito S, Tanaka T, Ohara N, Yamamoto K. Externalization of saw-tooth architecture in small serrated polyps implies the presence of methylation of IGFBP7. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1261-1270 [PMID: 22173745 DOI: 10.1007/s10620-011-2008-0]
- 21 Shimomura T, Hiyama T, Oka S, Tanaka S, Yoshihara M, Shimamoto F, Chayama K. Frequent somatic mutations of mitochondrial DNA in traditional serrated adenomas but not in sessile serrated adenomas of the colorectum. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1565-1569 [PMID: 21649722 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06797.x]
- 22 Fu X, Li L, Peng Y. Wnt signalling pathway in the serrated neoplastic pathway of the colorectum: possible roles and epigenetic regulatory mechanisms. *J Clin Pathol* 2012; 65: 675-679 [PMID: 22412046 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200602]
- 23 Dhir M, Yachida S, Van Neste L, Glöckner SC, Jeschke J, Pappou EP, Montgomery EA, Herman JG, Baylin SB, Iacobuzio-Donahue C, Ahuja N. Sessile serrated adenomas and classical adenomas: an epigenetic perspective on premalignant neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. *Int J Cancer* 2011; 129: 1889-1898 [PMID: 21154739 DOI: 10.1002/ijc.25847]
- 24 Mochizuka A, Uehara T, Nakamura T, Kobayashi Y, Ota H. Hyperplastic polyps and sessile serrated 'adenomas' of the colon and rectum display gastric pyloric differentiation. *Histochem Cell Biol* 2007; 128: 445-455 [PMID: 17851679 DOI: 10.1007/s00418-007-0326-2]
- 25 So K, Tamura G, Honda T, Homma N, Waki T, Togawa N, Nishizuka S, Motoyama T. Multiple tumor suppressor genes are increasingly methylated with age in non-neoplastic gastric epithelia. *Cancer Sci* 2006; 97: 1155-1158 [PMID: 16952303 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00302.x]
- 26 Waki T, Tamura G, Sato M, Motoyama T. Age-related methylation of tumor suppressor and tumor-related genes: an analysis of autopsy samples. *Oncogene* 2003; 22: 4128-4133 [PMID: 12821947 DOI: 10.1038/sj.onc.1206651]
- 27 卢筱洪, 罗和生. 表型遗传修饰对同源型框基因CDX2的表达调控影响. 中华医学会第12次全国内科学学术会议, 2009
- 28 Boulanger J, Vézina A, Mongrain S, Boudreau F, Perreault N, Auclair BA, Lainé J, Asselin C, Rivard N. Cdk2-dependent phosphorylation of homeobox transcription factor CDX2 regulates its nuclear translocation and proteasome-mediated degradation in human intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 18095-18107 [PMID: 15741163 DOI: 10.1074/jbc.M502184200]
- 29 Kawai H, Tomii K, Toyooka S, Yano M, Murakami M, Tsukuda K, Shimizu N. Promoter methylation downregulates CDX2 expression in colorectal carcinomas. *Oncol Rep* 2005; 13: 547-551 [PMID: 15706431]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



自身免疫性肝炎的研究进展

黄颖秋

■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是由自身免疫介导的肝实质炎症性病变,以高丙种球蛋白血症、血清自身抗体阳性、组织学示界面性肝炎以及对免疫抑制剂应答为特征。近年来,随着对AIH的认识加深以及自身抗体的检测和肝活检的广泛开展, AIH的检出率不断增加,其发病率也呈逐年上升趋势, AIH已成为新的研究热点。

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 主任医师, 教授, 研究生导师, 主要从事胃肠道动力疾病、消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由黄颖秋独立完成。

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科。

huangyingqiu_bx@126.com

电话: 0414-2215137

收稿日期: 2013-08-11 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-11-28

Advances in research of autoimmune hepatitis

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group), 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com

Received: 2013-08-11 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-11-28

Abstract

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic inflammatory disease of the liver triggered by an immune-mediated attack, characterized by the presence of hypergammaglobulinemia, serum autoantibodies, interface hepatitis on histological examination, and good response to immunosuppressive therapy. In this article, we will review the role of genetic susceptibility, inducing factors, molecular mimicry, liver injury, and immune regulation imbalance in the pathogenesis of AIH. In addition, this article systematically describes the advances in research of AIH in terms of clinical features, serological characteristics, histologic features, diagnosis and therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune liver disease; Autoimmune hepatitis; Genetic susceptibility; Molecular mimicry; Immunoregulation; Diagnosis; Therapy

Huang YQ. Advances in research of autoimmune hepatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3670-3677 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3670>

摘要

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是免疫介导的肝脏慢性炎症性疾病,以血清高球蛋白血症、自身抗体阳性、组织学示界面性肝炎以及对免疫抑制剂治疗应答为特征。本文系统阐述了遗传易感性、诱发因素、分子模拟、肝细胞损伤及免疫调节失衡在AIH发病机制中的作用。此外,本文还详尽阐述了AIH的临床特征、血清学特征、组织学特征、诊断以及治疗领域的最新研究进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性肝病; 自身免疫性肝炎; 遗传易感性; 分子模拟; 免疫调节; 诊断; 治疗

核心提示: 本文阐述了遗传易感性、分子模拟及免疫调节在自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)发病机制中的作用,对基础研究有重要参考价值,本文重点阐述了AIH的诊断和治疗进展,对临床工作有指导意义。

黄颖秋. 自身免疫性肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3670-3677 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3670.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3670>

0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种免疫介导的肝实质损害,多发于女性,以转氨酶和免疫球蛋白G(IgG)升高,血清自身抗体阳性,界面性肝炎以及对免疫抑制剂应答为特征^[1],常以急性或慢性形式发病^[2]. AIH与原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)^[3]及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)^[4]统称为自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)^[5]. AIH发病率较低,目前尚无确

■同行评议者

王怡, 主任医师, 天津市传染病医院, 天津市肝病研究所

切的流行病学资料, 随着简化版国际自身免疫性肝炎小组(international autoimmune hepatitis group, IAIHG)评分系统的应用以及血清自身抗体检测和肝活检的普遍开展, AIH的检出率显著提高, AIH的发病率也呈逐年上升趋势. AIH对免疫抑制剂的依从性较好, 采用标准化的免疫抑制剂治疗可阻断AIH进展, 诱导缓解并提高长期生存率^[1], 少数对激素无应答者可至肝硬化或肝衰竭而需肝移植治疗^[2]. AIH的发病机制尚不十分清楚, 可能与遗传易感性、分子模拟机制以及免疫调节机制缺陷有关^[6]. 近年来, AIH已引起国内外学者的关注, 基础与临床研究也取得长足进步, 本文就AIH的最新研究进展概述如下.

1 发病机制

1.1 遗传易感性 Czaja等^[7]认为, 因同一国家或不同国家间存在种族差异, AIH可有不同的临床表现和预后, 这些差异也可能反映AIH具有不同的遗传易感性. Geylan Güleç等^[8]对32例土耳其的AIH患儿研究显示, AIH患者的HLA-A24.9、-A26、-A32、-B38、-B51、-DRB1*04、-DRB1*07、-DRB1*11、-DRB1*15、-DRB1*14、-DR11.5频率显著高于健康对照组. I型AIH的易感性与HLA-A24.9、-A26、-A32、-DRB1*15显著相关, II型AIH的易感性与HLA-A26、-B51、-B38、-DRB1*11显著相关, 未分型AIH则与HLA-A32、-DRB1*04显著相关. Oliveira等^[9]研究发现, AIH的遗传易感性与HLA-DRB1等位基因密切相关, 在欧洲和北美人群中, I型AIH与HLA-DRB1*0301、-DRB3*0101、-DRB1*0401等位基因相关, II型AIH与-DRB1*0301或-DRB1*07相关. 在巴西, I型AIH的易感等位基因主要为-DRB1*1301, 其次为-DRB1*0301. 除上述HLA基因外, Tang等^[10]认为, 至少还有6个非HLA基因(*CTLA-4*、*Fas*、*TNF-α*、*TGF-β1*、*TBX21*、*VDR*)与中国人的AIH遗传易感性有关. 但国外的某些结果却大相径庭. van Gerven等^[11]对672例荷兰的AIH患者研究发现, *CTLA-4*+49 A/G等位基因的多态性与AIH的易感风险及疾病严重程度无关. Agarwal等^[12]研究显示, *Fas*基因-670位点的多态性并不影响AIH的易感性, 但可能影响肝硬化的早期发生. Paladino等^[13]发现, 儿童和成人AIH患者*TGF-β1*基因多态性的位点并不一样, 从而导致二者的临床表现和预后不同. Chen等^[14]研究证实, *TBX21*启动子T-1993C的基因多态性影响

I型AIH的遗传易感性. Smyk等^[15]推测, *VDR*可能与AIH的易感性有关. 总之, Ferri Liu等^[16]认为, 在欧洲和北美人群中, *HLA-DRB1*基因位点影响I型AIH的易感性, 其主要等位基因编码为HLA-DR3(DRB1*03)和HLA-DR4(DRB1*04), 而HLA-DRB1*1301则主要与儿童的AIH易感性相关.

1.2 诱发因素 研究表明, 多种病毒和药物可诱发AIH^[1]. 有报道显示, 甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)^[17]、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)^[18]、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)^[19]、戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)^[20]、艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV)^[21]、Epstein-Barr病毒(Epstein-Barr virus, EBV)^[22]、细小病毒B19(parvovirus B19)^[23]及巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)^[24]感染均可诱发AIH. 除此之外, Efe^[25]认为, 用于治疗类风湿性关节炎的生物制剂肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)阻滞剂, 包括英夫利昔单抗(infliximab)、依那西普(etanercept)及阿达木单抗(adalimumab)可能为诱发AIH的潜在致病因素. 最近, Dang等^[26]报道1例应用英夫利昔单抗治疗银屑病而导致AIH的病例证明了上述推测. 此外, 呋喃妥因(nitrofurantoin)^[27]、雷美替胺(ramelteon)^[28]也可诱发AIH. Barski等^[29]研究显示, 某些中草药成分也能损伤肝细胞, 触发自身免疫反应导致AIH. 最近, Wang等^[30]应用黄芩(*scutellaria baicalensis*, Sb)和/或柴胡(*bupleurum chinense*, Bc)药草提取物对C57BL/6J小鼠予腹腔内注射(1 mg/kg) 4或8 wk后发现, Sb或Bc诱发了AIH样小鼠模型. 提示Sb或Bc可以触发机体的免疫反应. 此外, von Felden等^[31]报道, 摄入含有葡萄糖胺和硫酸软骨素的营养补充品可导致严重的AIH. Liberal等^[1]认为, 尽管一些药物可成为AIH的诱发因素, 但药物引起的AIH一般不需要长期的免疫抑制剂治疗.

1.3 分子模拟机制 分子模拟是指侵入机体的外源性病原体的抗原表位与人体组织蛋白的抗原表位相同或相似, 致使机体免疫系统在清除外源性病原体的同时会攻击与之结构相似的自体成分, 导致组织和器官损害, 从而诱发自身免疫性疾病^[1]. Liberal等^[1]认为, 大约10%的HCV患者血清抗肝肾微粒体-1(liver kidney microsomal type 1, LKM-1)抗体阳性, 而HCV和LKM-1抗体的靶向抗原具有高度同源的氨基酸序列, 提示存在分子模拟. CYP2E1、CYP2D6均为细胞色素

■ 研发前沿

CYP2D6为AIH的确切抗原, 而CY-P2D6217-260及CYP2D6305-348为AIH的抗原表位. 据此, CY-P2D6小鼠可作为研究AIH的最好模型, 以此模型研究Tregs, 为探讨自体同源抗原特异性Tregs的移植治疗提供了充足的实验依据.

■ 相关报道

Weiler-Normann等对11例难治性AIH患者采用英夫利昔治疗后发现, 8例患者转氨酶恢复正常, 6例IgG降至正常, 5例肝组织学炎症得以改善。提示英夫利昔单抗治疗难治性AIH效果显著。

P450的家族成员, 位于肝表面^[32,33], CYP2E1的基因多态性能改变其编码酶的表达和活性^[32]。诱发AIH的关键是破坏免疫耐受, 激活体内的自身免疫反应^[32]。Ehser等^[34]发现, 自身/非自身分子模拟而非分子特性是破坏肝脏T细胞免疫耐受的先决条件。Sutti等^[32]采用基因定点突变和分子模拟技术研究发现, CYP2E1(324-346)肽与HCV的NS5b蛋白的2个序列NS5b(438-449)和NS5b(456-465)高度同源。CYP2E1与HCV-NS5b蛋白特异序列间的交叉反应促使CYP2E1表面靶向抗原表位的自身抗体产生, 从而引起肝损伤。II型AIH的自身抗原为CYP2D6, 而主要与之反应的自身抗体LKM-1为II型AIH的标志物^[33]。Hintermann等^[33]对AIH患者和CYP2D6小鼠模型的研究支持分子模拟可能作为AIH启动机制这一概念。抗可溶性肝抗原/肝-胰抗原(soluble liver antigen/liver-pancreas, SLA/LP)抗体被认为是AIH的高特异性诊断标志物, SLA/LP与病毒/细菌抗原间的分子模拟可能涉及AIH的致病机制^[35]。Paiardini等^[35]研究发现, SLA/LP免疫显性区域与立克次氏体PS120表面抗原区域间的结构相似性非常显著, SLA/LP自身表位与相应的立克次氏体序列等位基因HLA-DRB1*03:01间的相互作用已被模拟。HLA-DRB1*03:01与PS120间相互作用的“热点”位于P4结合位点, 以赖氨酸(71位点的HLA蛋白)和谷氨酸(795位点的PS120肽)盐桥来代表。此研究表明, 分子模拟机制可触发AIH, CD4⁺ T细胞识别的SLA/LP肽的确可与外源性立克次氏体抗原交叉反应, 对71位点重要性的分子解释在于HLA-DRB1*03:01等位基因对AIH的易感性, 此位点正电荷的缺乏可以阻止HLA等位基因与外源性肽结合及触发分子模拟事件。

1.4 肝细胞损伤机制 肝脏是拥有自身防御机制的特殊淋巴器官, 容易感染病毒和引发自身免疫性疾病^[36]。涉及抵抗外来毒素和致病因子这一免疫机制的所有成分细胞包括肝细胞、枯否细胞、内皮细胞、肝星状细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞和树突状细胞^[36]。肝脏的第一道防线是先天性免疫, 即使是药物性肝损伤也涉及先天性免疫^[36]。自然杀伤细胞和自然杀伤T细胞激活, 主要经Fas和FasL通路诱导肝细胞损伤^[36]。AIH是免疫介导肝损伤的一个范例, 有一个特殊并非特异的组织病理学改变^[36]。主效应淋巴细胞属于CD8亚群, 具有抗原特异性, 而此机制似乎被调节性T细胞抑制^[36]。Liberal等^[1]认为, 抗原

提呈细胞(antigen presenting cell, APC)提呈抗原肽, 以抗原肽-MMC经典II类分子复合物形式表达于APC表面, 通过T细胞以及表达于APC表面的多种协同刺激分子的共同刺激, CD4辅助T细胞(Th0)进一步分化, 并在白介素6(interleukin 6, IL-6)、IL-1 β 的介导下分化为具致病性的Th17细胞, 释放IL-17。Th17细胞可促进肝细胞分泌IL-6, 后者再促使Th17细胞加速分泌IL-17。Th0在IL-12的介导下分化为Th1细胞, 后者释放干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和IL-2。IFN- γ 可诱导单核细胞分化, 激活CD8⁺杀伤性T细胞并增加NK细胞的杀伤能力。在IFN- γ 介导下肝细胞上调MMC-I类复合物的表达, 并诱导MMC II类复合物在肝细胞异常表达。Th0在IL-4的介导下分化为Th2细胞, 释放IL-13、IL-4及IL-10, 从而促进B细胞成熟, 并产生自身抗体。后者进一步参与抗体介导的细胞毒作用及促进复合物的形成。Hintermann等^[37]对II型AIH的CYP2D6小鼠模型研究发现, 小鼠的慢性肝炎过程伴随着CYP2D6的特异性抗体产生以及细胞内的浸润。CYP2D6-依赖的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)慢性激活不仅导致细胞外基质沉淀增加, 也使主要存在于肝包膜及其下面的 α -平滑肌肌动蛋白表达升高。腺病毒Ad-2D6的感染途径显著影响炎症性单核细胞、NK细胞以及CYP2D6-特异性T细胞的活化和迁徙(trafficking)。Ad-2D6的腹腔感染能引起肝包膜下的纤维化和持续的炎症性单核细胞聚集。相比之下, 静脉内的感染可导致肝实质内CYP2D6-特异性CD4⁺ T细胞的积聚, 并诱导强烈的NK细胞应答以防止慢性HSC激活和纤维化。总之, Hintermann等^[37]推测, 炎症的起始部位以及自身抗原的表达引起特异性的细胞内迁徙(trafficking)和活化, 从而导致了II型AIH样的肝损伤和纤维化结果。Assis等^[38]对巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)及其受体CD74在AIH及PBC中的作用评估发现, AIH及PBC患者循环血清及肝组织中的MIF表达均高于健康对照组, PBC的CD74水平显著高于AIH, 而HSC释放的MIF受体CD74与MIF结合能中和其信号转导活性, 提示AIH与PBC在MIF基因位点存在不同的遗传和免疫致病基础, MIF和CD74可能在AIH的肝损伤机制中起作用。

1.5 免疫调节机制 调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)是不同于Th1和Th2的T细胞亚群, 具有免疫调节功能。Liberal等^[1]认为, AIH患者的

Tregs细胞在对CD4和CD8效应细胞的增殖调控中出现障碍, 人体局部的Tregs缺陷可能是导致AIH免疫调节障碍的主要原因。此外, 免疫调节缺陷还涉及效应细胞固有的外周耐受机制。Liberal等^[39]研究发现, AIH患者T细胞表面的抑制性受体T细胞免疫球蛋白黏蛋白3(T cell immunoglobulin and mucin protein 3, Tim-3)的数量减少, 而Tim-3与Tregs表达的半乳凝素9(galectin-9, Gal9)结合可诱导效应细胞的凋亡。此研究表明, CD4⁺ CD25⁺效应细胞表面的Tim-3以及Tregs表达的Gal9的含量降低通过减少效应细胞被Tregs调控以及降低后者的抑制能力致使AIH的免疫调节受损。

Muratori等^[40]认为, CD4⁺ CD25⁺ Tregs和Th17之间的相互影响在AIH的发病机制中起重要作用。Tregs细胞与效应细胞间数量及功能的失衡表明后者似乎是疾病进展的关键^[40]。此外, AIH的肝内微环境中富含IL-6、IL-17、IL-23、IL-1 β 等促炎性细胞因子, 他们在保持和扩充效应细胞以及随后的肝损伤中起关键作用, 而Tregs细胞在此极端的栖息环境中成为最大的弱势群体而被抑制^[40]。Tregs表达CD39, 后者是一种胞外三磷酸核苷双磷酸水解酶, 他可作为Tregs的表面标志来筛选Tregs细胞, CD39⁺ Tregs缺陷可能导致AIH的免疫调节功能受损^[41]。Grant等^[41]研究显示, AIH的CD39⁺ Tregs频率减少, 三磷酸腺苷(ATP)/二磷酸腺苷(ADP)的水解活性有限, 未能抑制效应CD4 T细胞产生IL-17。而且, 这些CD39⁺ Tregs在AIH显示出更多以CD127阳性、IFN- γ 及IL-17增加为特征的促炎症特性。此研究表明, 在AIH中, CD39⁺ Tregs数量减少, 不能充分水解促炎症核苷酸, 不能有效地通过效应CD4 T细胞抑制IL-17产生。基于促炎症因子的攻击, CD39⁺ Tregs显示出可塑性和不稳定性。提示AIH的免疫调节缺陷不仅由于Tregs数量和功能的下降, 而且更在于Tregs转换成效应细胞的增加^[41]。

2 临床特征

Delgado等^[42]研究显示, 在以色列南部地区, AIH的年平均患病率及发病率分别为11.0/10万和0.67/10万, 100例AIH患者中, 女性95例, 男性5例, 平均年龄47.9岁。I型AIH者77例, 肝纤维化及肝硬化者73.3%, AIH的1年和10年预估生存率分别为96.5%和89.7%^[42]。尽管AIH在儿童罕见, 但却是慢性肝病导致肝硬化及肝衰竭的严重病因^[16]。AIH患者常有疲劳、恶心、食欲不振、

黄疸、腹部不适、腹胀、尿黄、肝脾肿大、腹水、瘙痒等症状^[16,43,44], 起病急者病情凶险, Abe等^[45]发现, 41例经肝活检证实的急性I型AIH患者中, 36例为急性重型肝炎, 31.7%的AIH伴有小叶中心性坏死。此外, Abe等^[46]对250例AIH患者研究发现, 51例(20.4%)伴有肝硬化, 当中43例(84.3%)有肝硬化表现, 其余8例(15.7%)于随访期间(平均82.1 mo)进展至肝硬化。Liberal等^[1]认为, 多数AIH患者的临床表现没有特异性, 25%无症状, 30%-40%以急性暴发性肝炎起病, 约1/3 AIH患者确诊时已有肝硬化, 无症状者常于妊娠期间和产后发病, 40%的AIH患者有自身免疫性疾病家族史, 20%的AIH伴有其他自身免疫性疾病。Ohira等^[47]发现, AIH患者的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病率较病毒性肝炎者罕见, 5.1%的日本AIH患者并发HCC, 且常见于老年肝硬化患者。Czaja^[48]认为, AIH患者的HCC发病率为1%-9%, 瑞典AIH患者的HCC标准化发病率为23.3(95%CI: 7.5-54.3), 新西兰AIH患者的肝胆癌症标准化死亡率为42.3(95%CI: 20.3-77.9)。

3 血清学特征

AIH引起的肝损伤常致肝脏酶学改变, 少数还有淤胆征象。Liberal等^[1]认为, 对于胆汁淤积者, 必需除外是否合并肝外胆道梗阻、病毒性肝炎、药物性肝炎、PBC、PSC及重叠综合征等。根据自身抗体的阳性情况将AIH分为两型, 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)或抗平滑肌抗体(anti-smooth muscle antibody, SMA)阳性者为I型AIH, 抗LKM-1或抗LC-1阳性者为II型AIH^[1]。此外, 抗SLA/LP对AIH特异性很高, 且可评估疾病严重程度和不良预后^[1]。值得一提的是, AIH常可见PBC特异的AMA阳性^[1]。Abdollahi等^[44]采用IAIHG评分标准对60例AIH患者研究发现, 其血清AST为127.8 IU/L \pm 108.6 IU/L, ALT为146.0 IU/L \pm 98.4 IU/L, ALP为499.9 IU/L \pm 386.2 IU/L; 其血清抗体LKM-1、核周型抗中性粒细胞胞质抗体(P-ANCA)、ANA以及SMA的阳性率分别为71.4%、66.7%、42.4%及19.4%; 其血清抗体同时阳性的比率分别为SMA/ANA 6.7%、ANA/P-ANCA 6.7%、ANA/LKM-1 5.0%、LKM-1/SMA和/或ANA 3.3%。最近, 表达于活化淋巴细胞的程序性细胞死亡(programmed cell death, PD)-1功能障碍与AIH发病机制间的关系已引发推测^[49]。Matsumoto等^[49]研究发现, 63%

■创新盘点

本文引用了近4年的大量英文文献, 对AIH的发病机制、诊断和治疗进展进行了全面系统的阐述, 提供了大量有价值的参考信息。

■应用要点

本文详尽阐述了遗传易感性、诱发因素、分子模拟、肝损伤及免疫调节失调在AIH发病机制中的作用,对相关基础研究有重要参考价值;本文详尽阐述了AIH的最新诊断和治疗进展对临床工作有重要指导意义。

的I型AIH、8%的药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)、13%的急性病毒性肝炎(acute viral hepatitis, AVH)、18%的PSC患者以及3%的健康受试者血清抗PD-1抗体阳性,提示血清抗PD-1抗体作为一种辅助诊断标记有助于I型AIH与DILI、AVH及PSC的鉴别,抗PD-1抗体可能与I型AIH的临床特征有关^[49]。IgG4相关性AIH是一种新近认识的新型疾病^[50]。Umemura等^[50]研究显示,超过3%的日本I型AIH患者中发现有IgG4相关性AIH,二者间的关系有待于进一步研究。

4 组织学特征

界面性肝炎(interface hepatitis)为AIH典型组织学表现,以门管区及其周围组织淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞以及浆细胞浸润为特征^[1,51]。急性发作型AIH主要表现为小叶中心性坏死,暴发型AIH主要表现为大面积坏死及多个肝小叶消失^[1,45]。急性损伤型AIH的肝纤维化程度较慢性隐匿型AIH轻^[1]。Sahni等^[52]发现,几个MRI影像特征与AIH的纤维化阶段呈显著正相关。

5 诊断

2008年IAIHG提出的AIH简化评分系统主要包括IgG、自身抗体(ANA、SMA、抗LKM-1、SLA)、组织学特征和有无肝炎病毒感染4项指标,若评分 ≥ 6 ,可能为AIH;若评分 ≥ 7 ,确诊AIH^[1,53]。Muñoz-Espinosa等^[54]对墨西哥AIH患者研究发现,修订版IAIHG标准对诊断AIH有高度敏感性,而简化版对AIH具有高度特异性。Qiu等^[55]研究显示,与修订版比较,简化评分系统对我国AIH的诊断具有更高的敏感性和特异性。

6 治疗

Parker等^[56]认为,治疗AIH的目的是诱导和维持缓解以防止慢性肝炎、肝硬化及HCC等并发症产生。美国肝脏疾病研究协会(AASLD)实践指南将缓解定义为临床症状消失;转氨酶、胆红素、 γ -球蛋白等生化指标正常;组织学示炎症及肝细胞损伤消退^[57]。Liberal等^[1]认为,AIH对免疫抑制剂治疗应答良好,免疫抑制剂单独或联合硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)是治疗AIH的标准方案,80%采用标准化治疗的AIH患者获得完全缓解^[1]。对于界面性肝炎者,不论有无重度肝纤维化或肝硬化,均应采用激素治疗;对于门管区轻度炎症者,需根据血清AST、IgG含量以及临

床表现判断是否应用激素;对于无症状且组织学表现轻者,尤其绝经妇女及老年者,应慎用免疫抑制剂^[1]。激素作为AIH的长期治疗药物,不能擅自减量或停用,以免导致疾病复发或加重^[1]。对于大剂量激素治疗不耐受者,可联合AZA治疗,但应注意骨髓抑制风险^[1]或其他不良反应^[58]。最近,Khouri等^[58]报道了1例AZA诱发AIH长期发热的病例。Parker等^[56]认为,9%的AIH患者应用激素和AZA治疗失败;13%虽有改善但未达到缓解(不完全应答);还有13%不能耐受标准治疗。对上述患者,Liberal等^[1]建议采用一些补救治疗药物,如麦考酚酯、他克莫司、环孢霉素、甲氨蝶呤、环磷酰胺、熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)、利妥昔单抗、英夫利昔等。Burak等^[59]对6例难治性AIH研究证实,利妥昔的确安全有效。Weiler-Normann等^[60]研究显示,英夫利昔单抗治疗难治性AIH效果较好,但有并发感染风险。此外,Al-Shamma等^[61]应用黄嘌呤氧化酶抑制剂成功治疗难治性AIH患者。Czaja^[62]认为,尽管上述部分药物显示较好疗效,但对难治性AIH目前尚无标准化的治疗方案。

Liberal等^[1]认为,暴发型AIH约占8.7%-19.8%,激素仅对1/3暴发型AIH有效,对激素无效的暴发型AIH,肝移植可能是唯一有效治疗方法,肝移植术后5年和10年的生存率分别为90%和75%。但肝移植术后的高复发率仍是目前面临的难题^[63]。“自体同源抗原特异性Tregs移植治疗”是颇具前景的治疗方法,即通过植入Tregs以重建人体免疫耐受^[1]。研究显示,扩增的Tregs较体内的Tregs更具免疫抑制力^[1]。CYP2D6为II型AIH的特异性抗原,将Tregs暴露于CYP2D6抗原肽,并与携带CYP2D6抗原肽的半成熟树突状细胞共培养,可获得最有效的抗原特异性Tregs^[1]。

7 结论

尽管AIH的基础与临床研究均已取得不少进展,但其确切发病机制仍不十分清楚,简化版IAIHG评分系统对AIH的诊断价值仍有待于广泛的临床验证,难治性AIH的标准化治疗仍需积累共识,自体同源抗原特异性Tregs移植技术尚不成熟,仍需更深入的研究以使其完善。AIH的研究范围十分广泛,前景值得期待。

8 参考文献

- 1 Liberal R, Grant CR, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2013; 41: 126-139 [PMID: 23218932 DOI:

- 10.1016/j.jaut.2012.11.002]
- 2 Heneghan MA, Yeoman AD, Verma S, Smith AD, Longhi MS. Autoimmune hepatitis. *Lancet* 2013 Jun 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23768844 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62163-1]
- 3 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2761-2770
- 4 黄颖秋. 原发性硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2978-2985
- 5 Mattner J. Genetic susceptibility to autoimmune liver disease. *World J Hepatol* 2011; 3: 1-7 [PMID: 21307981 DOI: 10.4254/wjh.v3.i1.1]
- 6 Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 653-664 [PMID: 22117632 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.09.009]
- 7 Czaja AJ. Autoimmune hepatitis in diverse ethnic populations and geographical regions. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 365-385 [PMID: 23639095 DOI: 10.1586/egh.13.21]
- 8 Geylanı Güleç S, Urganci N, Polat TB, Demirel E, Yilmaz E. Relations between human leukocyte antigens and autoimmune hepatitis in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 42-46 [PMID: 21480110]
- 9 Oliveira LC, Porta G, Marin ML, Bittencourt PL, Kalil J, Goldberg AC. Autoimmune hepatitis, HLA and extended haplotypes. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 189-193 [PMID: 20933106 DOI: 10.1016/j.autrev.2010.09.024]
- 10 Tang J, Zhou C, Zhang ZJ, Zheng SS. Association of polymorphisms in non-classic MHC genes with susceptibility to autoimmune hepatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 125-131 [PMID: 22484578 DOI: 10.1016/S1499-3872(12)60136-2]
- 11 van Gerven NM, de Boer YS, Zwiers A, van Hoek B, van Erpecum KJ, Beuers U, van Buuren HR, Drenth JP, den Ouden JW, Verdonk RC, Koek GH, Brouwer JT, Guichelaar MM, Vrolijk JM, Kraal G, Mulder CJ, van Nieuwkerk CM, Bouma G. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 +49A/G polymorphism does not affect susceptibility to autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2013; 33: 1039-1043 [PMID: 23551963 DOI: 10.1111/liv.12157]
- 12 Agarwal K, Czaja AJ, Donaldson PT. A functional Fas promoter polymorphism is associated with a severe phenotype in type 1 autoimmune hepatitis characterized by early development of cirrhosis. *Tissue Antigens* 2007; 69: 227-235 [PMID: 17493146 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2006.00794.x]
- 13 Paladino N, Flores AC, Fainboim H, Schroder T, Cuarterolo M, Lezama C, Ballerga EG, Levi D, Tanno H, Costanzo G, Arruivito L, Fainboim L. The most severe forms of type I autoimmune hepatitis are associated with genetically determined levels of TGF-beta1. *Clin Immunol* 2010; 134: 305-312 [PMID: 19962351 DOI: 10.1016/j.clim.2009.11.004]
- 14 Chen S, Zhao W, Tan W, Luo X, Dan Y, You Z, Kuang X, Wang Y, Deng G. Association of TBX21 promoter polymorphisms with type 1 autoimmune hepatitis in a Chinese population. *Hum Immunol* 2011; 72: 69-73 [PMID: 20977921 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.10.019]
- 15 Smyk DS, Orfanidou T, Invernizzi P, Bogdanos DP, Lenzi M. Vitamin D in autoimmune liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 535-545 [PMID: 23845396 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.05.016]
- 16 Ferri Liu PM, de Miranda DM, Fagundes ED, Ferreira AR, Simões e Silva AC. Autoimmune hepatitis in childhood: the role of genetic and immune factors. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4455-4463 [PMID: 23901220 DOI: 10.3748/wjg.v19.i28.4455]
- 17 Elfaramawy AA, Elhossiny RM, Abbas AA, Aziz HM. HLA-DRB1 as a risk factor in children with autoimmune hepatitis and its relation to hepatitis A infection. *Ital J Pediatr* 2010; 36: 73 [PMID: 21067577 DOI: 10.1186/1824-7288-36-73]
- 18 Pawłowska M, Halota W. Acute liver failure caused by concurrent autoimmune hepatitis and hepatitis B in a 16-year old girl. *World J Hepatol* 2010; 2: 392-394 [PMID: 21160949 DOI: 10.4254/wjh.v2.i10.392]
- 19 Paroli M, Iannucci G, Accapezzato D. Hepatitis C virus infection and autoimmune diseases. *Int J Gen Med* 2012; 5: 903-907 [PMID: 23118549 DOI: 10.2147/IJGM.S37580]
- 20 Vieira CL, Baldaia C, Fatela N, Ramalho F, Cardoso C. Case of acute hepatitis E with concomitant signs of autoimmunity. *World J Hepatol* 2013; 5: 152-155 [PMID: 23556050 DOI: 10.4254/wjh.v5.i3.152]
- 21 Hagel S, Bruns T, Herrmann A, Tannapfel A, Stallmach A. Autoimmune hepatitis in an HIV-infected patient: an intriguing association. *Int J STD AIDS* 2012; 23: 448-450 [PMID: 22807544 DOI: 10.1258/ijisa.2009.009337]
- 22 Zellos A, Spoulou V, Roma-Giannikou E, Karentzou O, Dalekos GN, Theodoridou M. Autoimmune hepatitis type-2 and Epstein-Barr virus infection in a toddler: art of facts or an artifact? *Ann Hepatol* 2013; 12: 147-151 [PMID: 23293207]
- 23 Kordes U, Schneppenheim R, Briem-Richter A, Scherpe S, Schäfer HJ. Parvovirus B19 infection and autoimmune hepatitis in a child with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 323-324 [PMID: 21157899 DOI: 10.1002/pbc.22820]
- 24 Toyoda-Akui M, Yokomori H, Kaneko F, Shimizu Y, Takeuchi H, Tahara K, Yoshida H, Kondo H, Motoori T, Ohbu M, Oda M, Hibi T. Association of an overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis with cytomegalovirus infection. *Int J Gen Med* 2011; 4: 397-402 [PMID: 21731890 DOI: 10.2147/IJGM.S19245]
- 25 Efe C. Drug induced autoimmune hepatitis and TNF-α blocking agents: is there a real relationship? *Autoimmun Rev* 2013; 12: 337-339 [PMID: 22841985 DOI: 10.1016/j.autrev.2012.03.010]
- 26 Dang LJ, Lubel JS, Gunatheesan S, Hosking P, Su J. Drug-induced lupus and autoimmune hepatitis secondary to infliximab for psoriasis. *Australas J Dermatol* 2013 May 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23651182 DOI: 10.1111/ajd.12054]
- 27 Appleyard S, Saraswati R, Gorard DA. Autoimmune hepatitis triggered by nitrofurantoin: a case series. *J Med Case Rep* 2010; 4: 311 [PMID: 20863377 DOI: 10.1186/1752-1947-4-311]
- 28 Fourman LT, Robert Meyer B. Autoimmune hepatitis in association with ramelteon. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 651-654 [PMID: 23632362 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31829174f0]
- 29 Barski L, Rabaev E, Sztarkier I, Delgado J, Porath A, Jotkowitz AB. Autoimmune hepatitis and hypergammaglobulinemic purpura associated with herbal medicine use. *Isr Med Assoc J* 2008; 10: 390-391 [PMID: 18605369]
- 30 Wang JY, Lee CY, Pan PJ, Chang WC, Chiu JH, Chen WS, Shyr YM. Herb-induced autoimmune-

同行评价

本文综合国内外大量最新研究资料,详细阐述AIH的发病机制以及诊断和治疗的最新进展,分析透彻,思路清晰,对指导临床工作有重要的现实意义。

- like hepatitis in C57BL/6J mice. *Liver Int* 2013 Jul 1. [Epub ahead of print] [PMID: 23890230 DOI: 10.1111/liv.12266]
- 31 von Felden J, Montani M, Kessebohm K, Stickel F. Drug-induced acute liver injury mimicking autoimmune hepatitis after intake of dietary supplements containing glucosamine and chondroitin sulfate. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 51: 219-223 [PMID: 23391366 DOI: 10.5414/CP201835]
 - 32 Sutti S, Vidali M, Mombello C, Sartori M, Ingelman-Sundberg M, Albano E. Breaking self-tolerance toward cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in chronic hepatitis C: possible role for molecular mimicry. *J Hepatol* 2010; 53: 431-438 [PMID: 20576306 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.030]
 - 33 Hintermann E, Holdener M, Bayer M, Loges S, Pfeilschifter JM, Granier C, Manns MP, Christen U. Epitope spreading of the anti-CYP2D6 antibody response in patients with autoimmune hepatitis and in the CYP2D6 mouse model. *J Autoimmun* 2011; 37: 242-253 [PMID: 21795021 DOI: 10.1016/j.jaut.2011.06.005]
 - 34 Ehser J, Holdener M, Christen S, Bayer M, Pfeilschifter JM, Hintermann E, Bogdanos D, Christen U. Molecular mimicry rather than identity breaks T-cell tolerance in the CYP2D6 mouse model for human autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2013; 42: 39-49 [PMID: 23200317 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.11.001]
 - 35 Paiardini A, Pascarella S. Structural mimicry between SLA/LP and Rickettsia surface antigens as a driver of autoimmune hepatitis: insights from an in silico study. *Theor Biol Med Model* 2013; 10: 25 [PMID: 23575112 DOI: 10.1186/1742-4682-10-25]
 - 36 Dienes HP, Drebbler U. Pathology of immune-mediated liver injury. *Dig Dis* 2010; 28: 57-62 [PMID: 20460891 DOI: 10.1159/000282065]
 - 37 Hintermann E, Ehser J, Bayer M, Pfeilschifter JM, Christen U. Mechanism of autoimmune hepatic fibrogenesis induced by an adenovirus encoding the human liver autoantigen cytochrome P450 2D6. *J Autoimmun* 2013; 44: 49-60 [PMID: 23809878 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.05.001]
 - 38 Assis DN, Leng L, Du X, Zhang CK, Grieb G, Merk M, Garcia AB, McCrann C, Chapiro J, Meinhardt A, Mizue Y, Nikolic-Paterson DJ, Bernhagen J, Kaplan MM, Zhao H, Boyer JL, Bucala R. The role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in autoimmune liver disease. *Hepatology* 2013 Aug 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23913513 DOI: 10.1002/hep.26664]
 - 39 Liberal R, Grant CR, Holder BS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/tim-3 pathway. *Hepatology* 2012; 56: 677-686 [PMID: 22371007 DOI: 10.1002/hep.25682]
 - 40 Muratori L, Longhi MS. The interplay between regulatory and effector T cells in autoimmune hepatitis: Implications for innovative treatment strategies. *J Autoimmun* 2013; 46: 74-80 [PMID: 23871639 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.016]
 - 41 Grant CR, Liberal R, Holder BS, Cardone J, Ma Y, Robson SC, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. Dysfunctional CD39(POS) regulatory T cells and aberrant control of T helper type 17 cells in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2013 Jun 20. [Epub ahead of print] [PMID: 23787765 DOI: 10.1002/hep.26583]
 - 42 Delgado JS, Vodonos A, Malnick S, Kriger O, Wilkof-Segev R, Delgado B, Novack V, Rosenthal A, Menachem Y, Melzer E, Fich A. Autoimmune hepatitis in southern Israel: A 15-year multicenter study. *J Dig Dis* 2013; 14: 611-618 [PMID: 23815477 DOI: 10.1111/1751-2980.12085]
 - 43 Weiler-Normann C, Sebode M, Lohse AW. Autoimmune hepatitis 2013 and beyond. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2013; 59: 133-141 [PMID: 23831905]
 - 44 Abdollahi MR, Somi MH, Faraji E. Role of international criteria in the diagnosis of autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3629-3633 [PMID: 23801865 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3629]
 - 45 Abe K, Kanno Y, Okai K, Katsushima F, Monoe K, Saito H, Takahashi A, Yokokawa J, Ohira H. Centrilobular necrosis in acute presentation of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *World J Hepatol* 2012; 4: 262-267 [PMID: 23060971 DOI: 10.4254/wjh.v4.i9.262]
 - 46 Abe K, Katsushima F, Kanno Y, Takahashi A, Yokokawa J, Ohira H, Arinaga T, Ide T, Nishimura J, Inoue M, Seike M, Imazeki F, Yokosuka O, Sata M. Clinical features of cirrhosis in Japanese patients with type I autoimmune hepatitis. *Intern Med* 2012; 51: 3323-3328 [PMID: 23257515]
 - 47 Ohira H, Abe K, Takahashi A, Zeniya M, Ichida T. Clinical features of hepatocellular carcinoma in patients with autoimmune hepatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2013; 48: 109-114 [PMID: 22688407 DOI: 10.1007/s00535-012-0616-x]
 - 48 Czaja AJ. Hepatocellular carcinoma and other malignancies in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1459-1476 [PMID: 23306849 DOI: 10.1007/s10620-012-2525-5]
 - 49 Matsumoto K, Miyake Y, Matsushita H, Ohnishi A, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Nouse K, Yamamoto K. Anti-programmed cell death-1 antibody as a new serological marker for type 1 autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Jul 22. [Epub ahead of print] [PMID: 23869988 DOI: 10.1111/jgh.12340]
 - 50 Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Ota M, Kawa S, Nakanuma Y, Tanaka E. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *J Gastroenterol* 2011; 46 Suppl 1: 48-55 [PMID: 20862498 DOI: 10.1007/s00535-010-0323-4]
 - 51 Gleeson D, Heneghan MA. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *Gut* 2011; 60: 1611-1629 [PMID: 21757447 DOI: 10.1136/gut.2010.235259]
 - 52 Sahni VA, Raghunathan G, Mearadji B, Ukomadu C, Glickman J, Silverman SG, Erturk SM, Morteale KJ. Autoimmune hepatitis: CT and MR imaging features with histopathological correlation. *Abdom Imaging* 2010; 35: 75-84 [PMID: 19067033 DOI: 10.1007/s00261-008-9485-4]
 - 53 Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, Bittencourt PL, Porta G, Boberg KM, Hofer H, Bianchi FB, Shibata M, Schramm C, Eisenmann de Torres B, Galle PR, McFarlane I, Dienes HP, Lohse AW. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 169-176 [PMID: 18537184 DOI: 10.1002/hep.22322]
 - 54 Muñoz-Espinosa L, Alarcon G, Mercado-Moreira A, Cordero P, Caballero E, Avalos V, Villarreal G,

- Senties K, Puente D, Soto J, Esqueda B, Campos G, Martínez M, Jaquez J, Ramirez A, Reyes I, Kersh-nobich D, Montano-Loza AJ. Performance of the international classifications criteria for autoimmune hepatitis diagnosis in Mexican patients. *Autoim-munity* 2011; 44: 543-548 [PMID: 21875376 DOI: 10.3109/08916934.2011.592884]
- 55 Qiu D, Wang Q, Wang H, Xie Q, Zang G, Jiang H, Tu C, Guo J, Zhang S, Wang J, Lu Y, Han Y, Shen L, Chen X, Hu X, Wang X, Chen C, Fu Q, Ma X. Validation of the simplified criteria for diagnosis of autoimmune hepati-tis in Chinese patients. *J Hepatol* 2011; 54: 340-347 [PMID: 21056494 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.032]
- 56 Parker R, Oo YH, Adams DH. Management of pa-tients with difficult autoimmune hepatitis. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 421-437 [PMID: 23152735 DOI: 10.1177/1756283X12450251]
- 57 Malik TA, Saeed S. Autoimmune hepatitis: a review. *J Pak Med Assoc* 2010; 60: 381-387 [PMID: 20527613]
- 58 Khoury T, Ollech JE, Chen S, Mizrahi M, Shalit M. Azathioprine-induced fever in autoimmune hepati-tis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4083-4086 [PMID: 23840156 DOI: 10.3748/wjg.v19.i25.4083]
- 59 Burak KW, Swain MG, Santodomingo-Garzon T, Lee SS, Urbanski SJ, Aspinall AI, Coffin CS, Myers RP. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are refractory or intoler-ant to standard therapy. *Can J Gastroenterol* 2013; 27: 273-280 [PMID: 23712302]
- 60 Weiler-Normann C, Schramm C, Quaas A, Wiegard C, Glaubke C, Pannicke N, Möller S, Lohse AW. Infliximab as a rescue treatment in difficult-to-treat autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2013; 58: 529-534 [PMID: 23178709 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.010]
- 61 Al-Shamma S, Eross B, McLaughlin S. Use of a xan-thine oxidase inhibitor in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2013; 57: 1281-1282 [PMID: 23238820 DOI: 10.1002/hep.26198]
- 62 Czaja AJ. Drug choices in autoimmune hepatitis: part B--Nonsteroids. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 617-635 [PMID: 23061712 DOI: 10.1586/egh.12.38]
- 63 Liberal R, Zen Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Liver transplantation and autoimmune liver diseases. *Liver Transpl* 2013; 19: 1065-1077 [PMID: 23873751 DOI: 10.1002/lt.23704]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展

刘婕, 唐世孝

■背景资料

已报道姜黄素对肺癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、白血病、黑色素瘤等均有效, 肝细胞性肝癌是常见恶性肿瘤之一, 大量研究表明姜黄素具有抗肝癌细胞生长的作用。

刘婕, 唐世孝, 四川省泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

刘婕, 四川省泸州医学院研究生, 主要从事胃肠肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由刘婕完成; 唐世孝审校。

通讯作者: 唐世孝, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 四川省泸州医学院附属医院消化内科, 26111377@qq.com

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-11-28

Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma

Jie Liu, Shi-Xiao Tang

Jie Liu, Shi-Xiao Tang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Shi-Xiao Tang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taipingjie, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 26111377@qq.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-11-28

Abstract

Primary liver cancer, also known as hepatocellular carcinoma (HCC), is one of the most lethal cancers worldwide. Most HCC cases are reported in the developing countries in Asia and Africa. Viral hepatitis, alcoholism as well as dietary carcinogens, such as aflatoxins and nitrosoamines, contribute to HCC. Surgical resection is the best treatment for early HCC, and Chinese medicine is one of the main measures for the treatment of advanced HCC. Numerous studies show that curcumin has anti-cancer, anti-oxidant and anti-inflammatory properties. This article will discuss the mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in HCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Hepatocellular carcinoma; Molecular mechanism

Liu J, Tang SX. Molecular mechanisms behind anti-cancer effects of curcumin in hepatocellular carcinoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(33): 3678-3682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3678.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3678>

摘要

原发性肝癌, 也称之为肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC), 是世界上常见的恶性肿瘤之一, 东南亚国家地区和热带非洲的肝细胞癌发病率最高; 病毒性肝炎, 酒精及肝毒性物质(黄曲霉毒素或亚硝胺)均能导致肝细胞癌发病, 手术切除是治疗早期肝癌的主要方式, 中药是治疗中晚期肝癌的主要措施之一。姜黄素, 最主要的是多酚姜黄色素, 大量研究表明, 姜黄素有抗癌、抗氧化及抗炎的特性, 本文章就姜黄素抗人肝细胞癌生长作用机制的研究进展进行综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 姜黄素; 肝癌; 分子机制

核心提示: 姜黄素具有抗肝癌作用, 其分子机制为通过作用于一系列的分子信号通路发挥抗肝癌细胞生长作用。

刘婕, 唐世孝. 姜黄素抗肝癌分子机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3678-3682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3678.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3678>

0 引言

原发性肝癌, 尤其是肝细胞肝癌, 是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 男性肝癌病死率居各种肿瘤病死率的第5位, 女性第8位^[1,2], 全世界肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 年死亡人数高达700000例^[3], 2006年我国调查数据显示, 男性肝癌发病率占第3位, 女性肝癌发病率占第4位; 肝细胞癌发病率急剧增加, 尤其在亚洲发展中国家, 如中国、撒哈拉沙漠以南的非洲、欧洲中部和南部、南美洲大陆^[4,5]。绝大多数的HCC是感染乙型或丙型肝炎而发病, 肥胖、酒精性、非酒精性肝硬化、肝毒性药物(黄曲霉毒素

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

或亚硝胺)等^[3,6-8]也是HCC重要致病因素, 外科手术是治疗早期肝癌的主要措施, 肝移植往往受到供体的限制, 且复发率高达50%^[9], 一些区域性治疗方法也有一定的限制性, 如经肝动脉栓塞、经动脉化疗栓塞、钇-90(90Y)微球植入性的动脉给药。在肝癌治疗手段中, 化疗越来越占据重要位置, 但目前临床上用的化疗药物主要存在: (1)毒性太大; (2)选择性差; 对免疫系统、正常组织影响大; (3)对实体瘤作用不佳; (4)耐药性高等问题。中医中药已成为中晚期肝癌的主要治疗方法, 故联合中药并降低化疗药物的使用剂量在保持原疗效水平时既能减轻患者的不良反应, 也能提高治疗肝癌的临床效果^[10]。

姜黄类包括酚型和非酚型, 在亚洲南部, 姜黄最早作为防腐剂、抗菌及抗炎药治疗感染、呼吸疾病、水肿及风湿病^[11-14], 后来发现其还具有抗癌、护肝、护心、抗风湿炎等特性^[15-19]。Goel等^[18]从姜黄中分离出去甲氧基姜黄素、姜黄素和双去甲氧基姜黄素, 并比较了3种类型的细胞毒性、抗氧化及抗肿瘤活性, 得出活性最高的是双去甲氧基姜黄素, 去甲氧基姜黄素次之, 姜黄素最差; 商用姜黄素是姜黄素(77%)、去甲氧基姜黄素(18%)及双去甲氧基姜黄素(5%)的混合物^[18,20,21]; 近几十年姜黄素被广泛用于治疗慢性疾病, 如糖尿病、类风湿性关节炎、癌症, 大量的临床前研究及临床研究表明, 姜黄素有明显的抗肿瘤作用^[22]。

1 姜黄素的药理作用

姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚型色素, 自1985年印度Packard等^[23]首次提出姜黄和姜黄素可能具有抗肿瘤作用, 随后大量的研究证实。

姜黄素具有抗氧化、抗炎、抗感染、抑制肿瘤生长等药理作用, 炎症瀑布反应在慢性疾病发病机制中占主要作用, 姜黄素因具有抗炎的作用故可用于治疗慢性疾病^[24,25]。研究表明姜黄素具有抑制转录因子[核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ (peroxisome proliferators-activated receptor- γ , PPAP- γ)、p53]、蛋白激酶(EGFR、PKA、PKC等)、基因表达[细胞周期蛋白(CyclinD1)、环氧化酶2抑制剂(cyclooxygenase 2, COX2)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-9, MMP9)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素-12(interleukin-12, IL-12)]及其他[Bcl-2、

细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1)]的作用, 并通过改变一系列的信号通路发挥抗炎、抗氧化及抗肿瘤的作用^[26-28]; 如姜黄素能够抑制NF- κ B^[29], 而NF- κ B能调节炎症中介物如细胞活素类、趋化因子及蛋白激酶^[30,31](IL-1、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α 及环加氧酶)的活性^[32-34], 从而发挥抗炎作用, 且NF- κ B基因产物能调节细胞凋亡及增殖, 阻止肿瘤细胞的侵犯及血管的再生; 姜黄素还能与大量信号蛋白(转录因子、生长因子、黏附分子及抗凋亡蛋白)相互作用, 抑制癌细胞的增殖和凋亡及肿瘤的侵袭和转移^[35-40]。姜黄素抗肿瘤的分子机制^[41]可能包括以下: (1)下调前癌基因CyclinD1的表达; (2)诱导肿瘤细胞的停滞与凋亡; (3)抑制CyclinD-依赖性蛋白激酶4(cyclin-dependent protein kinases 4, CDK4); (4)抑制金属蛋白酶和肿瘤血管形成; (5)抑制细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)同工酶活性; (6)下调核转录因子(NF- κ B), 抑制可诱导性NO合成酶、COX2的活性; (7)改变微丝的结构和功能; (8)上调GADD153的转录。

2 姜黄素抗肝癌的作用

细胞凋亡主要通过死亡受体(外源性)通路和线粒体依赖性的细胞凋亡(内源性)通路, 并由一系列的促凋亡和抗凋亡调节因子控制, 外源性和内源性通路在形成具有裂解活性的Caspase3处汇合, 进一步导致DNA、核蛋白和细胞骨架崩解。凋亡受体属于肿瘤坏死因子家族, 结构上均具有相同的细胞内部分一“死亡区域”, 凋亡受体通路通过激活死亡受体, 形成死亡诱导信号复合物而启动凋亡过程。如Fas相关死亡结构域蛋白(fas-associated death domain protein, FADD)可介导Caspase8活化而触发细胞的凋亡。线粒体通路则常与Bcl-2家族有关, Bcl-2家族成员中部分为促凋亡蛋白, 部分为抗凋亡蛋白。二者的组成比例决定细胞对凋亡的敏感性。当细胞损伤发生时, 促凋亡蛋白自从胞质转移到线粒体膜上与抗凋亡蛋白相作用, 导致线粒体膜穿孔, 细胞色素C漏出, 而启动凋亡过程。

姜黄素抗肝癌机制认为可能主要与诱导肿瘤细胞凋亡有关, 其通过调控抑癌基因、癌基因及其蛋白的表达、诱导细胞周期停滞及调控细胞凋亡信号等途径来实现, 其还可以通过抗氧化、免疫调节、影响激素水平及上调GADD153的转录等机制发挥抗肿瘤的作用。

■研究前沿

姜黄素具有抗肝癌细胞生长的作用, 但其分子机制尚不完全清楚, 问题在于需要设计及系统性评价姜黄素抗肝癌生长作用的临床实验。

■ 相关报道

Jun、Takuto等均证实姜黄素具有抗不同肝癌细胞株生长的作用,但其分子机制主要与诱导肿瘤细胞凋亡有关。

王伟章等^[42]研究表明,姜黄素能够显著地上调肝癌细胞Huh7中的Bcl-2家族促凋亡蛋白Bad的表达,并诱导cytochromes从线粒体释放至胞浆中以及活化Caspase3蛋白,表明通过激活线粒体凋亡通路诱导肝癌细胞Huh7的凋亡。Yu等^[43]研究表明姜黄素能够诱导人肝细胞癌SMMC-7721的凋亡,且具有浓度依赖性,主要通过增加Bax蛋白的表达,降低Bcl-2蛋白表达。孙军等研究结果表明,在缺氧条件下,姜黄素通过抑制肝癌细胞BEL-7402中VEGF的mRNA和蛋白表达来抗肝癌血管生成、抑制癌细胞的生长和转移;随着缺氧时间延长,VEGF的蛋白和mRNA表达增强,郭志松等^[44]通过研究姜黄素对肝癌HepG2细胞和肝脏正常L-02细胞的生长抑制作用及其机制表明,姜黄素阻滞HepG2细胞周期于G₁期,此过程中Caspase3、Caspase8、Caspase9被激活,DR5蛋白表达上升,Bcl-2/Bax蛋白表达比率下降,得出姜黄素能够选择性杀伤HepG2细胞,并通过外源性通路和内源性通路两条通路促其凋亡。姜黄素通过下调血管内皮生长因子-A抑制Hepal-6细胞的生长^[45];Wang等^[46]研究表明其还能通过下调Chk1蛋白表达及阻滞细胞在G₂/M期来抑制肝癌细胞的凋亡;Wang等^[47]研究表明姜黄素通过激活p38上调Fas和FasL的蛋白及mRNA水平的表达诱导肝癌Huh7细胞的凋亡。Fujii等^[48]发现肝癌细胞HepG2具有高Mg²⁺活性的外核苷酸酶活性,姜黄素可能通过降低ecto-ATPase活性及影响外在依赖ATP反应来诱导肝癌细胞HepG2的凋亡;Wang等^[49]也证实姜黄素可能通过破坏线粒体膜及阻止游离Ca²⁺离子的积聚来诱导肝癌细胞HepG2的凋亡;Cheng等^[50]研究表明姜黄素通过增加内质网的负担及破坏线粒体功能来抑制人肝癌J5细胞增殖,并呈时间及浓度依赖方式,其机制通过下调Calnexin、PDI及Ero1-L α 的表达和上调Calreticulin的表达来诱导非折叠蛋白的反应,也通过裂解Caspase12和ATF6诱导GADD153的表达,并把ATF6转移至细胞核,还通过下调TCTP、Mcl-1及Bcl-2的表达来诱导线粒体的功能障碍,且通过降低Cdc2的表达来阻滞肝癌细胞在G₂/M时期。

3 结论

姜黄素因具有抗炎、抗氧化及抑制肿瘤生长等作用而被广泛用于治疗胃癌、结肠癌、类风湿性关节炎等慢性疾病,大量体外实验证实其能

通过作用于一系列的分子信号通路发挥抗肝癌细胞生长作用,但临床上姜黄素被用于治疗肝癌还需要做大量的实验研究,成功的关键在于设计系统性评价姜黄素抗肝癌生长作用的临床实验。肝癌的治疗方式为综合性治疗,单一使用姜黄素治疗肝癌的效果欠佳,联合化疗治疗肝癌将成为后续的研究热点。

4 参考文献

- 1 Simmons JE, Sloane RA, Van Stee EW. Hepatic cholesterol metabolism following exposure to carbon disulfide in phenobarbital-treated rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 1989; 18: 678-687 [PMID: 2802672 DOI: 10.1093/carcin/bgp263]
- 2 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 3 Schütte K, Bornschein J, Malfertheiner P. Hepatocellular carcinoma--epidemiological trends and risk factors. *Dig Dis* 2009; 27: 80-92 [PMID: 19546545 DOI: 10.1159/000218339]
- 4 Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004; 127: S5-S16 [PMID: 15508102]
- 5 McGlynn KA, Tsao L, Hsing AW, Devesa SS, Fraumeni JF. International trends and patterns of primary liver cancer. *Int J Cancer* 2001; 94: 290-296 [PMID: 11668511]
- 6 Ribes J, Cléries R, Esteban L, Moreno V, Bosch FX. The influence of alcohol consumption and hepatitis B and C infections on the risk of liver cancer in Europe. *J Hepatol* 2008; 49: 233-242 [PMID: 18571275 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.04.016]
- 7 Okuda K. Hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000; 32: 225-237 [PMID: 10728807]
- 8 Kensler TW, Egner PA, Wang JB, Zhu YR, Zhang BC, Lu PX, Chen JG, Qian GS, Kuang SY, Jackson PE, Gange SJ, Jacobson LP, Muñoz A, Groopman JD. Chemoprevention of hepatocellular carcinoma in aflatoxin endemic areas. *Gastroenterology* 2004; 127: S310-S318 [PMID: 15508099]
- 9 Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917 [PMID: 14667750 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14964-1]
- 10 曾山, 姚运红. 姜黄素与化疗药物联合抗癌作用的研究进展. *实用癌症杂志* 2010; 25: 218-220
- 11 Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Med* 1991; 57: 1-7 [PMID: 2062949 DOI: 10.1055/s-2006-960004]
- 12 Araújo CC, Leon LL. Biological activities of Curcuma longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 723-728 [PMID: 11500779]
- 13 Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2003; 23: 363-398 [PMID: 12680238]
- 14 Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75 [PMID: 17569205 DOI: 10.1007/978-0-387-46401-5_1]
- 15 Kiso Y, Suzuki Y, Watanabe N, Oshima Y, Hikino H. Antihepatotoxic principles of Curcuma longa rhizomes. *Planta Med* 1983; 49: 185-187 [PMID: 6811111]

- 6657788]
- 16 Srivastava R, Dikshit M, Srimal RC, Dhawan BN. Anti-thrombotic effect of curcumin. *Thromb Res* 1985; 40: 413-417 [PMID: 4082116]
 - 17 Babu PS, Srinivasan K. Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. *Mol Cell Biochem* 1995; 152: 13-21 [PMID: 8609907]
 - 18 Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 787-809 [PMID: 17900536 DOI: 10.1016/j.bcp.2007.08.016]
 - 19 Rivera-Espinoza Y, Muriel P. Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. *Liver Int* 2009; 29: 1457-1466 [PMID: 19811613 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02086.x]
 - 20 Goel A, Jhurani S, Aggarwal BB. Multi-targeted therapy by curcumin: how spicy is it? *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 1010-1030 [PMID: 18384098 DOI: 10.1002/mnfr.200700354]
 - 21 Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an "old-age" disease with an "age-old" solution. *Cancer Lett* 2008; 267: 133-164 [PMID: 18462866 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.025]
 - 22 Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 40-59 [PMID: 18662800 DOI: 10.1016/j.biocel.2008.06.010]
 - 23 Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 2008; 54: 24-38 [PMID: 18160725 DOI: 10.1373/clinchem.2007.097360]
 - 24 Murakami Y, Ishii H, Takada N, Tanaka S, Machino M, Ito S, Fujisawa S. Comparative anti-inflammatory activities of curcumin and tetrahydrocurcumin based on the phenolic O-H bond dissociation enthalpy, ionization potential and quantum chemical descriptor. *Anticancer Res* 2008; 28: 699-707 [PMID: 18507010]
 - 25 Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev* 2009; 14: 141-153 [PMID: 19594223]
 - 26 Calabrese V, Bates TE, Mancuso C, Cornelius C, Ventimiglia B, Cambria MT, Di Renzo L, De Lorenzo A, Dinkova-Kostova AT. Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 1062-1073 [PMID: 18792015 DOI: 10.1002/mnfr.200700316]
 - 27 Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett* 2008; 269: 199-225 [PMID: 18479807 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.009]
 - 28 Sarkar FH, Li Y, Wang Z, Padhye S. Lesson learned from nature for the development of novel anti-cancer agents: implication of isoflavone, curcumin, and their synthetic analogs. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1801-1812 [PMID: 20345353]
 - 29 Li L, Aggarwal BB, Shishodia S, Abbruzzese J, Kurzrock R. Nuclear factor-kappaB and IkappaB kinase are constitutively active in human pancreatic cells, and their down-regulation by curcumin (diferuloylmethane) is associated with the suppression of proliferation and the induction of apoptosis. *Cancer* 2004; 101: 2351-2362 [PMID: 15476283 DOI: 10.1002/cncr.20605]
 - 30 Shakibaei M, Schulze-Tanzil G, John T, Mobasheri A. Curcumin protects human chondrocytes from IL-1beta-induced inhibition of collagen type II and beta1-integrin expression and activation of caspase-3: an immunomorphological study. *Ann Anat* 2005; 187: 487-497 [PMID: 16320828]
 - 31 Skommer J, Wlodkowic D, Pelkonen J. Gene-expression profiling during curcumin-induced apoptosis reveals downregulation of CXCR4. *Exp Hematol* 2007; 35: 84-95 [PMID: 17198877 DOI: 10.1016/j.exphem.2006.09.006]
 - 32 Ralhan R, Pandey MK, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B links carcinogenic and chemopreventive agents. *Front Biosci (Schol Ed)* 2009; 1: 45-60 [PMID: 19482682]
 - 33 Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007; 65: S140-S146 [PMID: 18240538]
 - 34 Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: from bench to bedside. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008; 233: 21-31 [PMID: 18156302 DOI: 10.3181/0707-MR-196]
 - 35 Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 405-434 [PMID: 20737283 DOI: 10.1007/s10555-010-9235-2]
 - 36 Shishodia S, Amin HM, Lai R, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 700-713 [PMID: 16023083 DOI: 10.1016/j.bcp.2005.04.043]
 - 37 Aggarwal S, Ichikawa H, Takada Y, Sandur SK, Shishodia S, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of IkappaBalpha kinase and Akt activation. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 195-206 [PMID: 16219905 DOI: 10.1124/mol.105.017400]
 - 38 Kamat AM, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin potentiates the apoptotic effects of chemotherapeutic agents and cytokines through down-regulation of nuclear factor-kappaB and nuclear factor-kappaB-regulated gene products in IFN-alpha-sensitive and IFN-alpha-resistant human bladder cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1022-1030 [PMID: 17363495 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0545]
 - 39 Deeb D, Jiang H, Gao X, Al-Holou S, Danyluk AL, Dulchavsky SA, Gautam SC. Curcumin [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadine-3,5-dione; C21H20O6] sensitizes human prostate cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2L-induced apoptosis by suppressing nuclear factor-kappaB via inhibition of the prosurvival Akt signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 616-625 [PMID: 17289836 DOI: 10.1124/jpet.106.117721]
 - 40 Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, Price JE. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits

■创新盘点

通过列举一系列姜黄素抗肝癌细胞生长的研究,证明姜黄素具有抗肝癌的作用,其分子机制尚不完全清楚。

■同行评价

姜黄素具有抗癌、抗氧化及抑制炎症反应的作用, 近年越来越受到人们的关注。本文作者就姜黄素对肝癌细胞抑制的分子机制进行了综述。

- lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7490-7498 [PMID: 16243823 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1192]
- 41 刘晓真, 张宏颖. 姜黄素与肿瘤细胞作用的分子机制. 大连医科大学学报 2008; 30: 465-468
- 42 王伟章, 金小宝, 毛建文, 郑敏. Chk1基因沉默增强姜黄素诱导肝癌细胞Huh7凋亡的敏感性. 中国癌症杂志 2010; 20: 95-100
- 43 Yu J, Zhou X, He X, Dai M, Zhang Q. Curcumin induces apoptosis involving bax/bcl-2 in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1925-1929 [PMID: 22292626]
- 44 郭志松, 邵换璋, 薛飞, 卢创新. 姜黄素对肝癌HepG2细胞和肝脏正常细胞L-02细胞的生长抑制作用及其机制. 中华实验外科杂志 2012; 29: 851-853
- 45 Jia L, Wang H, Qu S, Miao X, Zhang J. CD147 regulates vascular endothelial growth factor-A expression, tumorigenicity, and chemosensitivity to curcumin in hepatocellular carcinoma. *IUBMB Life* 2008; 60: 57-63 [PMID: 18379992 DOI: 10.1002/iub.11]
- 46 Wang WZ, Cheng J, Luo J, Zhuang SM. Abrogation of G2/M arrest sensitizes curcumin-resistant hepatoma cells to apoptosis. *FEBS Lett* 2008; 582: 2689-2695 [PMID: 18602917 DOI: 10.1016/j.febslet.2008.06.048]
- 47 Wang WZ, Li L, Liu MY, Jin XB, Mao JW, Pu QH, Meng MJ, Chen XG, Zhu JY. Curcumin induces FasL-related apoptosis through p38 activation in human hepatocellular carcinoma Huh7 cells. *Life Sci* 2013; 92: 352-358 [PMID: 23352975 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.01.013]
- 48 Fujii T, Minagawa T, Shimizu T, Takeguchi N, Sakai H. Inhibition of ecto-ATPase activity by curcumin in hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *J Physiol Sci* 2012; 62: 53-58 [PMID: 21932081 DOI: 10.1007/s12576-011-0176-5]
- 49 Wang M, Ruan Y, Chen Q, Li S, Wang Q, Cai J. Curcumin induced HepG2 cell apoptosis-associated mitochondrial membrane potential and intracellular free Ca(2+) concentration. *Eur J Pharmacol* 2011; 650: 41-47 [PMID: 20883687 DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.09.049]
- 50 Cheng CY, Lin YH, Su CC. Curcumin inhibits the proliferation of human hepatocellular carcinoma J5 cells by inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *Int J Mol Med* 2010; 26: 673-678 [PMID: 20878089]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



十二指肠间质瘤的研究进展

李昱骥, 董明

李昱骥, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室
胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

李昱骥, 2011年中国医科大学博士, 副教授, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由李昱骥完成; 董明审校。

通讯作者: 董明, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街153号, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科。cmudongming@sohu.com

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-19

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-28

Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors

Yu-Ji Li, Ming Dong

Yu-Ji Li, Ming Dong, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ming Dong, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, 153 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. cmudongming@sohu.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-19

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-28

Abstract

Duodenal gastrointestinal stromal tumors are common primary tumors of the duodenum, which are regarded as a group of gastrointestinal stromal tumors in most studies. However, since the duodenum has a special anatomical position and is adjacent to important organs, the diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors have a certain particularity. This paper discusses the special aspects of the diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors, especially the selection of right means of operation based on the tumor condition and the use of effective targeted therapy to achieve good outcome.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Duodenal gastrointestinal stromal tumors; Diagnosis; Treatment

Li YJ, Dong M. Diagnosis and treatment of duodenal gastrointestinal stromal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3683-3687 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3683>

摘要

十二指肠间质瘤是常见的十二指肠原发肿瘤。目前的研究多将十二指肠间质瘤视为消化系统间质瘤的一部分进行。但因为十二指肠有着特殊的位置和重要脏器毗邻, 故其诊断和治疗有着一定的特殊性。本文着重介绍了十二指肠间质瘤诊断以及治疗上的特殊之处, 特别是根据肿瘤的情况选择合适的手术方式, 并联合有效的靶向治疗以取得良好的评价, 对临床工作具有指导意义。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 十二指肠间质瘤; 诊断; 治疗

核心提示: 本文总结了当前资料中对十二指肠间质瘤诊断和治疗的最新的观点和看法, 为临床工作提供指导性的意见。通过对相关病例的总结, 归纳出十二指肠间质瘤的临床特点, 并对治疗方案的选择进行了详尽的分析。

李昱骥, 董明. 十二指肠间质瘤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3683-3687 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3683>

0 引言

十二指肠间质瘤(duodenal gastrointestinal stromal tumor, GIST)系指发生在十二指肠部位的间质瘤, 占十二指肠原发肿瘤的30%^[1], 占消化系统间质瘤的3%-5%^[2,3]。因为十二指肠的位置特殊及毗邻重要脏器, 使得其诊断和治疗均有一定的困难。随着对其研究的重视和深入, 越来越多的检查方式被临床应用, 为术前诊断和术后评估提供参考。治疗手段上, 适当的手术方式联合有效的靶向治疗已经被大多数所认同, 并取得

■背景资料

十二指肠间质瘤往往作为消化系统间质瘤的一个部分被介绍, 因而往往被或略其位于十二指肠这一特殊部位的重要性。今年来随着对消化系统间质瘤整体研究的发展, 十二指肠间质瘤的相关内容的研究也逐渐被重视起来。大家也对起特殊性有了进一步的研究, 逐渐形成统一的认识。

■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

■研发前沿

对于能手术切除的十二指肠间质瘤首选手术治疗, R0切除能取得理想的治疗效果, 手术后结合基因检测选择适当病例进行靶向治疗可以提高患者的生存时间. 对于未能手术切除的患者, 也可以考虑进行靶向治疗.

了良好的评价.

目前多数报道均将十二指肠间质瘤视为胃肠间质瘤的一部分进行分析, 追踪近10余年文献^[3-15], 国内最大宗的单病种报道文献仅为39例^[4](跨度13年). 通过各个专业医师的通力合作, 对十二指肠间质瘤的认识越来越深, 相关报道也逐渐增多. 2011年, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会(Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO)胃肠间质瘤专家委员会发布了中国胃肠间质瘤诊断治疗专家共识^[16]中, 也对十二指肠间质瘤的相关内容进行了简单论述.

1 临床与病理特点

1.1 临床特点 就发病年龄和性别而言, 因目前尚无大样本病理报道未能做出客观评述. 现有资料显示老年人居多, 男性多于女性^[4,5], 这与全部胃肠间质瘤整体的男女比基本接近有异^[2], 估计还需要进一步统计分析. 和其他的胃肠道间质瘤一样, 消化系出血是十二指肠间质瘤的主要临床表现^[2,4,5]. 可能是因为十二指肠间质瘤主要位于十二指肠肌层, 向内可达黏膜下层甚至固有层, 可导致黏膜表面形成溃疡引起出血^[13,17].

1.2 病理特点 十二指肠间质瘤多为单发, 目前尚无重复病理报道. 一般认为肿瘤 ≥ 5 cm, 核分裂像 $\geq 5/50$ 高倍视野(high power field, HP), 有周围脏器浸润或术中破裂均提示预后不良^[16]. 酪氨酸受体CD117和造血干细胞抗原CD34的阳性率较高, 可以作为鉴别诊断的依据, 而可溶性核糖核酸(soluble ribonucleic acid, SMA)蛋白和可溶性酸性蛋白S-100阳性率较低^[5,8]. CD117和CD34阳性还对术后靶向治疗的药物选择及治疗效果有较大意义^[18-20].

2 诊断

2.1 螺旋CT 多排螺旋CT具有良好的空间密度分辨率, 其作用不仅仅在于定位诊断. 相关研究显示^[21,22]: 高、中、低度危险性的胃肠道间质瘤在肿瘤的大小、周围脂肪间隙、强化方式和瘤周及瘤内血管的显示方面有统计学差异; 高度危险性的肿瘤影像包括形态不规则、边缘模糊的较大肿块、多排螺旋CT增强扫描可见明显不均匀强化、静脉期比动脉期强化更明显、瘤周及瘤体内显示有肿瘤供血血管的病变; 而肿瘤浸润邻近脏器或血管、出现腹腔播散、肝脏或其他部位出现转移灶等.

2.2 磁共振成像 磁共振成像(magnetic resonance

imaging, MRI)研究显示^[22,23]: MRI动态增强后渐进性强化可作为为胃肠道间质瘤的表现特征之一, 但时间-信号强度曲线类型尚不能成为GIST侵袭危险度的评估指标. 与CT相比, MRI图像质量会受到呼吸运动、胃肠道蠕动及气体等影响, 且对钙化的显示不直观, 但MRI对软组织的分辨率极高, 且具有多方位成像及功能成像优势, 使其对胃肠道间质瘤的诊断及侵袭危险度评估更具优势.

2.3 超声与超声内镜 超声较早应用于十二指肠间质瘤间质瘤的诊断, 但由于受到患者腹腔情况及检查者技术的限制, 往往难以提供准确的诊断, 故常用于患者筛查. 内镜超声的作用近年来越来越受到重视, 他可以对胃肠道黏膜及黏膜下隆起性病变判断其病变起源、回声特征以及肿瘤的大小及边缘情况, 但能否准确辨别全部病变的性质还有待提高^[24,25]. 内镜超声引导下穿刺活检适用于初发且疑是十二指肠间质瘤, 术前需除外淋巴瘤者^[16].

2.4 标志物及基因检测 近年来, DOG1(discovered on gastrointestinal tumor 1)作为新发现的标志物也被应用于诊断, 其敏感性优于CD117, 约有36%的CD117阴性病例DOG1表达阳性^[26]. 另外还发现胃肠道间质瘤组织中DOG1蛋白表达情况与肿瘤发生部位、细胞丰富程度、细胞核异形性及危险度分级有关^[27]. 在基因检测方面, 推荐对c-kit基因的第11、9、13和17号外显子以及血小板源型生长因子受体 α 多肽(platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFRA)基因的第12和18号外显子进行检测, 其中c-kit基因的第11或9号外显子可做优先检测^[16,28,29].

3 治疗

十二指肠间质瘤同其他消化系间质瘤一样, 很少发生淋巴结转移^[3-15]. 手术是首选且有效的治疗方法^[30,31], 术后生存率与肿瘤的危险度密切相关, 危险度级别越高, 5年生存率越差^[4,5], 扩大切除范围并不能有效地改善预后, 所以推荐施行保留器官功能的R0手术切除^[2,16]. 术后对于中、高度危险的患者主张进行靶向治疗. 对于直径 >2 cm的局限性肿瘤可行手术切除, 手术目标是尽可能达到R0切除^[16]. 目前的手术方式包括单纯切除肿瘤的十二指肠部分切除术; 切除肿瘤所在器官的十二指肠节段性切除术或胃大部切除术; 扩大切除范围的胰十二指肠切除术. 研究表明单纯扩大切除范围并不能有效地改善预

表 1 原发性十二指肠间质瘤手术后危险度分级

危险度分级	肿瘤大小(cm)	核分裂数(每50 HP)	临近脏器受累或术中破裂
极低危险组	<2.0	≤5	无
低危险组	2.0-5.0	≤5	无
中危险组	2.0-5.0	>5	无
	<5.0	6-10	无
	5.0-10.0	≤5	无
高危险组	>10	任何	有or无
	任何	>10	有or无
	>5.0	>5.0	有or无
	任何	任何	有

■ 相关报道

尽管十二指肠部位特殊,多数学者依然认为应该尽可能切除肿瘤而不能轻易放弃手术治疗,对于术前估计难以切除病例,可以行新辅助治疗后获得手术条件。

后^[2,4,5,32],故认为应该将十二指肠部分切除术作为首选考虑,仅对于直径>5 cm且位于十二指肠降部,距离十二指肠乳头3 cm以内者行胰十二指肠切除术^[4,7,32]。十二指肠间质瘤生物学特性不同于其他的十二指肠恶性肿瘤,应尽可能切除肿瘤以期获得较好的预后。邵成浩等^[8]报道了5例已经在外院行手术探查病例,其中1例已经存在右肝转移,再次手术切除后均长期健康生存。目前报道^[2-7,16,32]均显示,包括十二指肠间质瘤在内的胃肠道间质瘤很少发生淋巴结转移,故除非有证据证明转移,不需要进行常规的淋巴结清扫。

应用腹腔镜治疗十二指肠间质瘤的报道并不多见,国内仅有1例报道^[7]。估计是因为十二指肠间质瘤在腹腔内位置较深,腹腔镜操作容易造成肿瘤破裂引起腹腔播散和腹膜种植转移有关。中国胃肠间质瘤诊断治疗专家共识中亦不推荐常规使用^[16]。国外经验来看,对于直径≤5 cm者,可以考虑在有经验的中心进行腹腔镜手术^[33],并且推荐使用“取物袋”来避免肿瘤破裂播散;对于直径>5 cm者,除了临床研究需要外,不推荐进行腹腔镜手术^[34,35]。

不能切除的局限性肿瘤或者切除风险较大且严重影响脏器功能者,宜先行术前药物治疗,待肿瘤缩小后再行手术^[16,36-38]。术前药物治疗一般认为应用伊马替尼治疗6 mo比较适宜,推荐剂量为400 mg/d^[39]。也有报道使用经导管动脉栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)使肿瘤缩小后手术切除^[32]。

对于手术切除的十二指肠间质瘤,有中、高复发危险者应该进行术后辅助治疗。美国外科协会Z9001研究^[40]证明,具有复发危险因素的胃肠道间质瘤完整切除后,应用伊马替尼辅助治疗1年可以明显改善患者的无复发生存率,推荐伊马替尼的治疗剂量为400 mg/d,认为中危患者

应至少治疗1年,高危患者应治疗3年;国内的相关研究^[41]也支持对中、高危患者进行术后伊马替尼的辅助治疗,只是在治疗时限上认为无论中、高危患者均应治疗3年。Blanke等^[42]的实验亦证明上述观点。还有研究显示^[43,44],*c-kit*基因11号外显子突变者对伊马替尼反应较好,9号外显子突变者敏感性稍差,对这一类患者应该将剂量提高至800 mg/d。

手术后出现复发或转移的十二指肠间质瘤,如能完整切除复发转移病灶,应首选手术切除,然后继续应用伊马替尼治疗。临床观察显示^[45-47],局部复发患者接受肿瘤完整切除后继续服用伊马替尼可以获得较好的无疾病进展期与总生存期。对于不能根治切除者,可以增加伊马替尼剂量(增加至600 mg/d)或者换用舒尼替尼治疗^[16]。对于无法手术切除的肝转移患者还可以考虑将动脉栓塞和射频消融作为辅助治疗的方式^[48-52]。

目前相关的研究较少,尚需进一步的询证医学证据支持和结合临床情况。张勇等^[5]指出核分裂像是判断预后的独立因素。CSCO胃肠间质瘤专家委员^[4]参考美国国立卫生署(National Institutes of Health, NIH)2008-04提出的原发胃肠道间质瘤切除后的危险分级标准,将肿瘤大小,核分裂数以及有无浸润转移或术中破裂作为判定十二指肠间质瘤术后复发危险度分级的标准(表1)。这些形态学规律与生物学行为的关系有助于指导辅助治疗和评估预后。

4 结论

同其他胃肠道间质瘤一样,我们对十二指肠间质瘤的认识和研究正在逐步加深。手术治疗仍然作为首先的治疗手段,但由以往的单一手术治疗相比较,已经逐渐转变向由手术、术后辅助治疗及术前辅助治疗相结合的综合治疗的方

■创新盘点

借助多学科的合作, 有效地进行十二指肠间质瘤的诊断, 选择适当的治疗方式, 重视个体化治疗和靶向治疗, 有效的提高其治疗效果。

向, 更加注重个体化方案和针对性治疗。同时靶向药物的治疗地位越来越突出出来, 随着研究的深入, 对十二指肠间质瘤的诊断和治疗必将会重大突破, 以期获得更好的治疗效果和更长的生存时间。

5 参考文献

- Buchs NC, Bucher P, Gervaz P, Ostermann S, Pugin F, Morel P. Segmental duodenectomy for gastrointestinal stromal tumor of the duodenum. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2788-2792 [PMID: 20533599 DOI: 10.3748/wjg.v16.i22.2788]
- 沈旺, 王新允, 郑海燕, 武力, 袁海洪. 胃肠道及胃肠道外间质瘤216例临床病理学特点. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 693-695
- 李春艳, 郭世斌, 刘丽娜. 十二指肠间质瘤临床分析. *临床消化病杂志* 2010; 22: 287-288
- 李昱骥, 周建平, 李新, 孔凡民, 田雨霖, 董明. 十二指肠间质瘤39例临床分析. *中华普通外科杂志* 2013; 28: 654-657
- 张勇, 陈凛. 十二指肠间质瘤临床分析30例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2893-2896
- 田艳涛, 赵平, 王成峰, 郝玉芝, 宋艳, 白晓枫, 许东奎, 邵永孚. 十二指肠间质瘤的临床特点及外科治疗. *中国微创外科杂志* 2005; 5: 133-135
- 陈泉宁, 彭承宏, 王建承, 韩宝三, 程东峰, 鲁正, 王小明. 十二指肠间质瘤16例临床分析. *肝胆外科杂志* 2007; 15: 108-110
- 邵成浩, 胡先贵, 刘瑞, 张怡杰, 周颖奇, 金钢, 唐岩. 十二指肠间质瘤的临床病理特点与外科治疗的研究. *中华普通外科杂志* 2006; 21: 703-705
- 汪正广, 孟翔凌, 祁义军, 李团结, 赵文娣. 十二指肠间质瘤的诊治及预后. *安徽医科大学学报* 2012; 47: 485-487
- 厉学民, 张家敏, 毛根军, 俞世安, 许龙堂, 吴荣进, 郑樟栋. 十二指肠间质瘤的诊断与外科治疗-附16例临床报告. *中国中西医结合外科杂志* 2012; 18: 164-165
- 黄恒星, 左洪, 张吉翔. 十二指肠间质瘤15例临床分析. *南昌大学学报(医学版)* 2012; 52: 58-60
- 彭海, 刘爱军, 祁振国. 十二指肠间质瘤15例临床分析. *内蒙古医学杂志* 2012; 44: 657-659
- 姜洋, 高宇飞, 孔大亮, 任辉. 伴有消化道出血的十二指肠间质瘤的临床分析. *中国普通外科杂志* 2011; 20: 1137-1139
- 李正荣, 揭志刚, 刘逸, 谢小平. 十二指肠间质瘤的临床分析. *中华普通外科杂志* 2011; 26: 8-10
- 田艳涛, 赵平, 邵永孚, 吴健雄, 王成峰, 单毅, 宋艳. 十二指肠间质瘤11例. *中国普通外科杂志* 2004; 13: 696-698
- CSCO胃肠道间质瘤专家委员会. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗专家共识(2011年版). *临床肿瘤学杂志* 2011; 16: 836-844
- Miettinen M, Kopczynski J, Makhlof HR, Sarlomo-Rikala M, Gyorffy H, Burke A, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 625-641 [PMID: 12717247 DOI: 10.1097/0000478-200305000-00006]
- Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CD. Monoclonal antibody DOG1.1 shows higher sensitivity than KIT in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, including unusual subtypes. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 437-446 [PMID: 19011564 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318186b158]
- 胡其欣, 高青. 胃肠道间质瘤的临床特征及治疗进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2050-2057
- 顾国利, 王林石, 任立, 魏学明, 李德昌, 周晓武, 黄蓉蓉. 胃肠道间质瘤的临床病理分析和免疫组化特点. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2241-2246
- 任阿红, 刘剑羽, 周延, 刘毅. MSCT二期增强扫描对胃肠道间质瘤病变危险度的预测价值. *中国医学影像学杂志* 2011; 19: 226-231
- 郑育聪, 李健丁, 张瑞平. 胃肠道间质瘤的影像学研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 49-53
- 徐熠琳, 李小康, 刘佩芳, 曹文枫, 鲍润贤. MRI对胃肠道间质瘤诊断和侵袭危险度的评估价值. *临床放射学杂志* 2011; 30: 373-377
- 于衍会, 高善玲. 内镜超声诊断胃肠道黏膜及黏膜下隆起性病变432例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1745-1748
- 邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 484-489
- 梁建芳, 郑绘霞, 肖虹, 武丽娜, 王宏坤. 胃肠道间质瘤病理诊断新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 58-64
- 邱伟菁, 汪明, 曹晖. DOG1基因在胃肠道间质瘤诊断中的研究进展. *外科理论与实践* 2010; 15: 692-694
- Neves LR, Oshima CT, Artigiani-Neto R, Yanagibashi G, Lourenço LG, Forones NM. Ki67 and p53 in gastrointestinal stromal tumors--GIST. *Arq Gastroenterol* 2009; 46: 116-120 [PMID: 19578612 DOI: 10.1590/S0004-28032009000200008]
- Menéndez P, Padilla D, Cubo T, Villarejo P, Gambi D, Menéndez JM, Colina F, García M, Lora D, Martín J. Biological behavior due to cell proliferation markers of gastrointestinal stromal tumors. *Hepato-gastroenterology* 2011; 58: 76-80 [PMID: 21510290]
- DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 2000; 231: 51-58 [PMID: 10636102 DOI: 10.1097/0000658-200001000-00008]
- Gold JS, van der Zwan SM, Gönen M, Maki RG, Singer S, Brennan MF, Antonescu CR, De Matteo RP. Outcome of metastatic GIST in the era before tyrosine kinase inhibitors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 134-142 [PMID: 17080234 DOI: 10.1245/s10434-006-9177-7]
- 陈凛, 李涛. 十二指肠间质瘤临床诊断与治疗. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 945-946
- Otani Y, Furukawa T, Yoshida M, Saikawa Y, Wada N, Ueda M, Kubota T, Mukai M, Kameyama K, Sugino Y, Kumai K, Kitajima M. Operative indications for relatively small (2-5 cm) gastrointestinal stromal tumor of the stomach based on analysis of 60 operated cases. *Surgery* 2006; 139: 484-492 [PMID: 16627057 DOI: 10.1016/j.surg.2005.08.011]
- Casali PG, Jost L, Reichardt P, Schlemmer M, Blay JY. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20 Suppl 4: 64-67 [PMID: 19454466 DOI: 10.1093/annonc/mdp131]
- 季加孚. 小肠间质瘤的诊断与治疗. *临床外科杂志* 2008; 16: 509-511
- Sjölund K, Andersson A, Nilsson E, Nilsson O, Ahlman H, Nilsson B. Downsizing treatment with tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors improved resectability. *World J Surg* 2010; 34: 2090-2097 [PMID: 20512492 DOI: 10.1007/s00268-010-0639-5]

- 37 McAuliffe JC, Hunt KK, Lazar AJ, Choi H, Qiao W, Thall P, Pollock RE, Benjamin RS, Trent JC. A randomized, phase II study of preoperative plus post-operative imatinib in GIST: evidence of rapid radiographic response and temporal induction of tumor cell apoptosis. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 910-919 [PMID: 18953611 DOI: 10.1245/s10434-008-0177-7]
- 38 Eisenberg BL, Harris J, Blanke CD, Demetri GD, Heinrich MC, Watson JC, Hoffman JP, Okuno S, Kane JM, von Mehren M. Phase II trial of neoadjuvant/adjuvant imatinib mesylate (IM) for advanced primary and metastatic/recurrent operable gastrointestinal stromal tumor (GIST): early results of RTOG 0132/ACRIN 6665. *J Surg Oncol* 2009; 99: 42-47 [PMID: 18942073 DOI: 10.1002/jso.21160]
- 39 曹晖, 汪明. 胃肠道间质瘤的规范化治疗. *中华消化外科杂志* 2011; 10: 405-408
- 40 Duffaud F, Blay JY. Gastrointestinal stromal tumors: biology and treatment. *Oncology* 2003; 65: 187-197 [PMID: 14657591 DOI: 10.1159/000074470]
- 41 Chen TW, Liu HD, Shyu RY, Yu JC, Shih ML, Chang TM, Hsieh CB. Giant malignant gastrointestinal stromal tumors: recurrence and effects of treatment with STI-571. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 260-263 [PMID: 15633227]
- 42 Blanke CD, Demetri GD, von Mehren M, Heinrich MC, Eisenberg B, Fletcher JA, Corless CL, Fletcher CD, Roberts PJ, Heinz D, Wehre E, Nikolova Z, Joensuu H. Long-term results from a randomized phase II trial of standard- versus higher-dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol* 2008; 26: 620-625 [PMID: 18235121 DOI: 10.1200/JCO.2007.13.4403]
- 43 Gajiwala KS, Wu JC, Christensen J, Deshmukh GD, Diehl W, DiNitto JP, English JM, Greig MJ, He YA, Jacques SL, Lunney EA, McTigue M, Molina D, Quenzer T, Wells PA, Yu X, Zhang Y, Zou A, Emmett MR, Marshall AG, Zhang HM, Demetri GD. KIT kinase mutants show unique mechanisms of drug resistance to imatinib and sunitinib in gastrointestinal stromal tumor patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 1542-1547 [PMID: 19164557 DOI: 10.1073/pnas.0812413106]
- 44 Gastrointestinal Stromal Tumor Meta-Analysis Group (MetaGIST). Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors: a meta-analysis of 1,640 patients. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1247-1253 [PMID: 20124181 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.2099]
- 45 Dematteo RP, Ballman KV, Antonescu CR, Maki RG, Pisters PW, Demetri GD, Blackstein ME, Blanke CD, von Mehren M, Brennan MF, Patel S, McCarter MD, Polikoff JA, Tan BR, Owzar K. Adjuvant imatinib mesylate after resection of localised, primary gastrointestinal stromal tumour: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009; 373: 1097-1104 [PMID: 19303137 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60500-6]
- 46 Li J, Gong JF, Wu AW, Shen L. Post-operative imatinib in patients with intermediate or high risk gastrointestinal stromal tumor. *Eur J Surg Oncol* 2011; 37: 319-324 [PMID: 21277730 DOI: 10.1016/j.ejso.2011.01.005]
- 47 DeMatteo RP, Maki RG, Singer S, Gonen M, Brennan MF, Antonescu CR. Results of tyrosine kinase inhibitor therapy followed by surgical resection for metastatic gastrointestinal stromal tumor. *Ann Surg* 2007; 245: 347-352 [PMID: 17435539 DOI: 10.1097/01.sla.0000236630.93587.59]
- 48 Emory TS, Sobin LH, Lukes L, Lee DH, O'Leary TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors: dependence on anatomic site. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 82-87 [PMID: 9888707 DOI: 10.1097/00000478-199901000-00009]
- 49 Jones RL, McCall J, Adam A, O'Donnell D, Ashley S, Al-Muderis O, Thway K, Fisher C, Judson IR. Radiofrequency ablation is a feasible therapeutic option in the multi modality management of sarcoma. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 477-482 [PMID: 20060679 DOI: 10.1016/j.ejso.2009.12.005]
- 50 张宗明, 李刚, 高原, 邢海林, 朱建平, 宿砚明, 钟华, 郭金星, 杨俊雄. 原发性十二指肠肿瘤诊治8例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1330-1332
- 51 Pawlik TM, Vauthey JN, Abdalla EK, Pollock RE, Ellis LM, Curley SA. Results of a single-center experience with resection and ablation for sarcoma metastatic to the liver. *Arch Surg* 2006; 141: 537-543; discussion 543-544 [PMID: 16785353 DOI: 10.1001/archsurg.141.6.537]
- 52 廖世兵, 秦叔逵. 胃肠道间质瘤的现状和未来. *肿瘤研究与临床* 2006; 18: 529-533

■同行评价

本文综述了十二指肠间质瘤的临床病理特点及常用的诊断方法, 特别介绍了治疗方法的选择, 具有很好的临床指导意义, 论述思路清晰, 可读性强。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展

王科伟, 董明

■背景资料

维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)属于类固醇激素,能介导1,25-二羟维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]调节多种正常组织或肿瘤组织细胞的生长和分化。VDR基因存在多态性,与结直肠癌的发生发展密切相关。

王科伟, 董明, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

王科伟, 讲师, 主要从事结直肠肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 查阅资料与综述撰写由王科伟完成; 由董明负责审核。

通讯作者: 董明, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。

mingdong@mail.cmu.edu.cn

电话: 024-83282882

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-09-10

接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-11-28

Vitamin D receptor and colorectal cancer

Ke-Wei Wang, Ming Dong

Ke-Wei Wang, Ming Dong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ming Dong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. mingdong@mail.cmu.edu.cn

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-09-10

Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-11-28

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third cause of cancer-related morbidity and mortality in America following lung cancer and stomach cancer. In China and other Asian countries, increasingly Westernized diets have led to a high incidence of CRC. The vitamin D receptor (VDR) can mediate 1,25(OH)₂D₃ to regulate cell growth and differentiation in a variety of normal tissues or tumor tissues. VDR gene polymorphisms are closely related to the occurrence and development of CRC. This article summarizes the recent progress in understanding the relationship between VDR and CRC in terms of the structure and function of VDR, mechanisms of CRC inhibition, correlation between VDR polymorphisms and CRC, and the development of analogs of VDR ligands.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vitamin D receptor; 1,25-dihydroxyvitamin D₃; Colorectal cancer

Wang KW, Dong M. Vitamin D receptor and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3688-3694
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3688.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3688>

摘要

结直肠癌目前是世界排名第3位的恶性肿瘤,仅次于肺癌和胃癌。随着饮食的西化,中国等亚洲国家的结直肠癌发病率也逐渐升高。维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)属于类固醇激素,能介导1,25-二羟维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]调节多种正常组织或肿瘤组织细胞的生长和分化。VDR基因存在多态性,与结直肠癌的发生发展密切相关。本文总结了近年来在结直肠癌方面对VDR的研究进展,主要包括VDR的结构和功能、抑制结直肠癌的作用机制、VDR基因多态性与结直肠癌发生的相关性及VDR配体类似物在药物开发研究领域的最新进展。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维生素D受体; 1,25-二羟维生素D₃; 结直肠癌

核心提示: 维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)可以介导1,25-二羟维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]实现抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的作用。如果我们研制出选择性激活VDR的抗癌特性而不引起高钙血症的维生素D类似物,将为结直肠癌的治疗提供巨大的帮助。

王科伟, 董明. 维生素D受体在结直肠肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3688-3694 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3688.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3688>

0 引言

维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)为亲

■同行评议者

杜祥, 教授, 主任医师, 上海复旦大学附属肿瘤医院; 黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

核蛋白, 是介导1,25-二羟维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]发挥生物效应的核内生物大分子, 属于类固醇激素/甲状腺激素受体超家族成员. 维生素D的许多生物学功能都是通过VDR介导调节靶基因转录来实现的. 1,25(OH)₂D₃激素信号分子在靶细胞与VDR结合形成激素-受体复合物, 该复合物作用于靶基因上的特定DNA序列, 对结构基因的表达产生调节作用. VDR在本质上是一种配体依赖的核转录因子, 他在维持机体钙-磷代谢, 调节细胞增殖、分化等方面起重要作用. 本文针对近年来VDR在结直肠癌肿瘤的研究进展做一综述.

1 VDR的结构和功能

1969年Laussler分离出一种分子质量为5 kU, 由427个氨基酸残基构成, 能与维生素D特异结合的蛋白质, 并把他命名为维生素D受体. 人类VDR基因位于12号染色体q13上, 全长约75 kb, 共由11个外显子和11个内含子组成^[1]. 其功能上主要分为5个结构域: A/B区、DNA结合区(DNA binding domain, DBD)、铰链区、配体结合区(ligand binding domain, LBD)和AF-2区. A/B区为N端短区, 为不依赖配体的细胞组织特异性的转录激活自调节功能区(AF-1), 但其自主调节功能很弱. DBD区为DNA结合结构域, 高度保守, 人、大鼠与鸡的同源性高达98.5%. 他由VDR外显子II、III编码, 此域可与靶基因结合, 主要识别特定的DNA序列. DBD由8个保守的半胱氨酸组成2个锌指结构, 每个锌指形成一个A2螺旋, 两个A2螺旋相互垂直构成DBD的核心, 从而与类视黄醇x受体(RXR)形成异二聚体. 铰链区具有很高的免疫原性, 但其确切结构和功能尚未阐明, 可能与核定位有关. LBD区为配体结合区, 由VDR基因外显子V-IX编码, 是VDR结合1,25(OH)₂D₃的主要部位; 其次, 该区还介导与RXR形成异二聚体, 增强其与VDRE(维生素D反应元件)的结合能力. 在该区近C端处存在一个转录激活/抑制功能区(AF-2), 与AF-1协同作用, 可促进VDR与协同激活因子/协同抑制因子相结合, 从而使VDR发挥调控靶基因的转录活性^[2].

2 VDR的抗肿瘤作用机制

较低的1,25(OH)₂D₃水平和钙摄取量是导致多种癌症发生的重要因素. 1,25(OH)₂D₃能够降低

15种癌症的死亡率, 如结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胃癌、卵巢癌等^[3,4]. 说明维生素D具有抗肿瘤作用^[5,6]. VDR的表达会随着肿瘤分级的增加而增加, 到晚期后开始下降, 而患者的预后会随着维生素D代谢酶的增加而下降^[7]. VDR介导1,25(OH)₂D₃抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的生物学效应通过以下方面发挥作用: (1)1,25(OH)₂D₃可通过上调胰岛素生长因子结合蛋白(insulin-like growth factors binding protein, IGFBP)的表达, 降低胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)的活性, 阻断IGF-1有丝分裂作用, 从而诱导肿瘤细胞凋亡. 甚至可以直接影响凋亡调控因子例如Bcl-2和Bax促使肿瘤细胞凋亡^[8,9]; (2)1,25(OH)₂D₃通过上调周期素依赖性激酶抑制因子(cyclin dependent kinase inhibitor, CDKI)P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 使视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白去磷酸化, 并使E2F转录活性降低, 致使肿瘤细胞停滞于G₀/G₁期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化^[10,11]; (3)c-Myc是细胞周期重要的调节因子. Rohan等^[12]发现1,25(OH)₂D₃能够促进c-Myc蛋白58位酪氨酸磷酸化, 加速c-Myc蛋白的泛素化降解, 从而抑制癌细胞增殖, 表现在加入1,25(OH)₂D₃后, 处于G₁期的细胞比例明显上升. 同样有研究显示在肿瘤细胞中1,25(OH)₂D₃可以逐渐降低Myc RNA水平^[13]. 另外, Salehi-Tabar等^[14]研究发现在敲除VDR基因的小鼠多种组织中呈现出高水平的c-Myc. 进一步的机制研究证实1,25(OH)₂D₃可以通过VDR的介导, 增加MAX二聚化蛋白1(MAX dimerization protein 1, MXD1)的表达, 达到抑制c-Myc表达水平的作用. 因此, 我们认为VDR对c-Myc表达和功能的调控在抗肿瘤方面提供了一个重要的分子基础.

VDR对结直肠癌信号通路的调控作用: 大量数据表明维生素D-VDR通路与Wnt/β-catenin/TCF通路相交汇. 而后者在结肠癌中被很早的激活. β-catenin已被定位为维生素D及其类似物在结肠癌的预防过程中的一个关键媒介. 维生素D可以直接与VDR结合从而抑制β-catenin信号^[15]. 对β-catenin-TCF通路的抑制作用可以通过VDR和TCF/LEF相互竞争与β-catenin的结合来实现. 共激因子P300可以介导β-catenin的乙酰化, 乙酰化的β-catenin的C-末端可以直接与VDREs作用, 从而通过促进细胞分化而达到抑制细胞增殖^[16]. 核内β-catenin的水平决定了Wnt/β-catenin

■研发前沿

1,25(OH)₂D₃通过上调周期素依赖性激酶抑制因子P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 使视网膜母细胞瘤(Rb)蛋白去磷酸化, 并使E2F转录活性降低, 致使肿瘤细胞停滞于G₀/G₁期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化.

■相关报道

由于VD在体内起作用必须通过VDR, 有关VDR多态性与结直肠癌的关系开始受到关注, 目前研究发现患者携带的基因型不同则患肿瘤的风险及其预后均有所不同。

信号的强度, 进而影响了各种正常细胞和癌细胞的增殖速率和分型。1,25(OH)₂D₃及其类似物可以通过以下两种机制在人结肠癌细胞株中对Wnt/β-catenin通路产生干扰: (1)他们使VDR与β-catenin结合增加, 阻碍了β-catenin/TCF复合物的形成, 诱导Wnt抑制因子DKK1的表达, 促进β-catenin由核内转向浆膜的重新分布, 使得β-catenin与E-钙黏着蛋白结合, 从而降低核内β-catenin含量, 进而达到抑制Wnt/β-catenin信号通路的作用^[17,18]; (2)1,25(OH)₂D₃可以降低巨噬细胞源性白介素-1β的合成与分泌, 后者在结肠癌细胞内可以通过阻碍β-catenin被糖原合成激酶3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)的磷酸化而激活Wnt/β-catenin通路^[19]。实验表明: 在VDR缺失的Apcmin/+的小鼠模型中, 核内β-catenin水平升高, Wnt/β-catenin通路靶基因的表达也升高, 在这些效应的作用下肿瘤的大小也随之增加。用shRNA下调VDR的表达也可以得出与上述相似的结果。另外, 其研究还发现VDR的缺失并没有改变肿瘤的数量而是增加了肿瘤的大小, 说明VDR并没有阻止由突变而导致的Wnt/β-catenin早期激活, 而是限制其信号的强度来实现抗肿瘤的作用^[20]。Zheng等^[21]的研究结论也与上述结论一致。

大量证据显示VDR可以与磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)结合, 通过诱导分化的方式来抑制细胞增殖^[22], PI3K/AKT通路可以被1,25(OH)₂D₃激活。很多研究表明在VDR与PI3K/AKT或RAS/MAPK通路间存在潜在的联系^[23,24]。在这些通路中, PIK3CA或KRAS突变在结直肠癌的发展中起重要的作用。PIK3CA突变激活AKT通路下游基因, 促使结直肠癌细胞的生长。Kure等^[25]发现维生素D受体的表达在结直肠癌中与PIK3CA或KRAS突变存在联系, 在结直肠癌中VDR的表达可能会影响PI3K/AKT通路的调控, 但具体机制尚不清楚, 有待进一步的研究。

还有一些学者认为VDR的表达可以作为结肠癌预后良好的标志物, 因为他们发现VDR的表达与肿瘤的高分化及无淋巴转移相关。但由于纳入分析的病例数较少, 其结论有待进一步验证^[26]。VDR表达的早期肿瘤病人可以通过1,25(OH)₂D₃及其类似物降低Wnt/β-catenin信号通路的致癌作用而起到治疗作用。然而, 晚期肿瘤VDR表达的缺失不仅会让这种治疗变得无效,

还会使核内β-catenin水平升高和Wnt/β-catenin信号增强。在许多人类肿瘤细胞中可产生对维生素D抗肿瘤的抵抗作用, 这可能是由于VDR介导的抗增殖基因活化受到抑制。在结肠肿瘤中, Snail就可以起到抑制VDR表达的作用^[27]。在60%-70%的结肠肿瘤中可以发现Snail的表达, 并且与VDR的表达呈反比^[28,29]。被激活的VDR可以促进上皮细胞分化、增加E-cadherin和其他细胞内黏附基因的表达^[30,31], 因此Snail对VDR的抑制作用可以促使上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生。最近有研究发现Snail家族成员, Snail2可以经由β-catenin-TCF通路下调VDR的表达^[32], 因此, 进行对VDR表达有抑制作用基因的研究, 有助于我们进一步开发VDR介导维生素D的抗肿瘤作用。

3 VDR基因多态性与结直肠癌

结直肠癌目前是世界排名第3位的恶性肿瘤, 仅次于肺癌和胃癌。在欧洲, 每年有37万例被确诊患有结直肠癌, 20万例因该病死亡。国内外对其病因进行了大量研究。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)广泛存在于基因组中, 单个碱基的变异可引起编码氨基酸的改变, 或改变mRNA的剪切方式, 从而影响所表达的蛋白质功能^[33]。近年来发现, VD在乳腺癌、结直肠癌细胞中可以诱导凋亡。由于VD在体内起作用必须通过VDR, 有关VDR多态性与结直肠癌的关系开始受到关注。应用限制性片段长度多态性多聚酶链反应法(restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction, RFLP-PCR)分析发现, VDR基因具有明显的多态性。根据特定的限制性内切酶酶切位点的存在与否将其分型^[34]: 含有Bsm I、Apa I、Taq I、Fok I、Cdx-2酶切位点者分别为b, a, t, f或c型, 不含相应酶切位点的为B, A, T, F或C型。

Cdx-2(rs11568820)和Fok I(rs2228570)位于基因的5'端; Bsm I(rs1544410)、Apa I(rs7975232)和Taq I(rs731236)位于基因3'非翻译区(untranslated region, UTR)。携带的基因型不同则患肿瘤的风险及其预后均有所不同^[35]。

目前许多学者正在开展VDR基因多态性与结直肠癌发生率的研究。Mahmoudi等^[36]研究伊朗人群160例结直肠癌患者和180例对照的VDR Apa I基因型, 发现相对于AA型, aa型患结直肠癌的风险明显增高(OR = 2.25, 95%CI =

1.18-4.28). Gündüz等^[37]在高加索人群中, 研究43例结肠癌患者和42例对照的VDR *Bsm I* 和 *Taq I* 基因型, 发现等位基因B和T以及Bb/TT基因型在对照组中的出现几率明显高于结肠癌组(OR = 0.312, 95%CI: 0.100-0.973, $P = 0.039$; OR = 0.254, 95%CI: 0.064-1.000, $P = 0.039$; OR = 0.122, 95%CI: 0.032-0.460, $P = 0.001$), 说明VDR *Bsm I* 和 *Taq I* 多态性可能是结肠癌发生的风险因素. Jenab等^[38]在欧洲人群中, 研究1248例结直肠癌患者和1248例对照的VDR *Bsm I* 和 *Fok I* 基因型, 发现相对于野生bb基因型, 携带BB基因型者患结直肠癌的风险明显降低(RR = 0.76, 95%CI: 0.59-0.98), 而VDR *Fok I* 与结直肠癌的发生风险无关. 在国内的研究中也得出与之一致的结果, Li等^[39]在中国人群中, 研究200例结直肠癌患者和200例对照的*Bsm I* 和 *Fok I* 基因型, 发现相对于bb基因型, 携带BB基因型者患结直肠癌的风险明显降低(OR = 0.015, 95%CI: 0.007-0.032), 而VDR *Fok I*多态性与结直肠癌的发生无关. Yaylim-Eraltan等^[40]研究26例结直肠癌病人与52例对照的VDR *Taq I* 或 *Fok I* 基因型, 发现TTFf或TtFf在结直肠癌中出现几率明显低于其他基因型(OR = 0.112, 95%CI: 0.030-0.419), 说明VDR TtFf或TTFf基因型可能降低结直肠癌的发生率.

但也有研究认为, VDR基因的多态性与结直肠癌的发生发展无关. Bentley等^[41]在新西兰人群中, 研究200例结直肠癌患者和200例对照的VDR *Fok I*、*Taq I* 和 *Cdx-2* 基因型, 发现他们均与结直肠癌的发生风险无关. Mahmoudi等^[42]研究452例结直肠癌患者和452例对照的VDR *Fok I* 和 *Bsm I* 基因型, 发现VDR *Fok I* 和 *Bsm I* 基因型与结直肠癌发病风险无关. Hughes等^[43]在捷克人群中, 对754例结直肠癌患者和627例对照的VDR *Bsm I*、*Apa I*、*Taq I* 基因型进行研究, 发现上述2种基因多态性与结直肠癌的发生风险上无明显相关. Slattery等^[44]研究2365例结直肠癌患者和2969例对照的VDR *Cdx-2* 基因型, 发现*Cdx-2*多态性与结直肠癌无明显相关. 这种结果的差异可能是由于不同人种或不同群体间的差异所致. 最近, Bai等^[35]对自1990-01/2010-08发表的23篇研究报告进行Meta分析, 纳入分析的有*Bsm I*、*Apa I*、*Taq I*、*Fok I*、*Cdx-2* 5种VDR基因多态性, 结果显示: 只有*Bsm I* 基因型与结直肠癌的发病率有关.

4 维生素D类似物的应用前景

1,25(OH)₂D₃在维持免疫功能、预防糖尿病和癌症等疾病方面有潜在的作用^[45]. 维生素D缺乏与人类许多疾病密切相关^[46], 但是1,25(OH)₂D₃的增加往往伴随血钙水平过高, 因此研究不引起高血钙的VDR激动剂(VDR agonists, VDRAs)越来越受到关注. 基础研究表明, 1,25(OH)₂D₃及其类似物具有抗增殖的作用, 并且能够活化凋亡途径, 抑制血管形成. 因此, 1,25(OH)₂D₃其类似物具有潜在的抑制肿瘤作用. 因此, 我们应进行VDR介导1,25(OH)₂D₃在肿瘤信号通路作用机制的研究, 以研制出具有特异性抗肿瘤或者增强传统化疗效果的维生素D类似物. 已有研究表明^[7,47], 维生素D类似物可以经由VDR与β-catenin共激活作用选择性激活VDR的抗癌特性, 而不引起高钙血症等不良反应. EB1089就是一种维生素D类似物, 他比1,25(OH)₂D₃更具有抑制肿瘤细胞生长、促进细胞分化, 不引起高钙血症的潜能^[48,49]. 研究还发现维生素D受体激动剂和奥沙利铂等一线化疗药物合用可以增强对肿瘤增殖的抑制作用^[50]. 这些结果有待进一步的临床试验验证.

5 结论

VDR可以介导1,25(OH)₂D₃实现抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞分化的作用. 1,25(OH)₂D₃通过上调周期素依赖性激酶抑制因子(CDKI)P21和P27, 抑制cyclin-CDK复合物的活性, 致使肿瘤细胞停滞于G₀/G₁期, 阻止其进入S期, 从而调节肿瘤细胞的增殖和分化. 另外, 他也参与结直肠癌信号通路的传导, VDR对β-catenin-TCF通路的抑制作用可以通过VDR和TCF/LEF相互竞争与β-catenin的结合来实现. 因此, 如果我们可以研制出选择性激活VDR的抗癌特性而不引起高钙血症的维生素D类似物, 将为结直肠癌的治疗提供巨大的帮助.

6 参考文献

- 1 Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 203-217 [PMID: 11218372 DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a018033]
- 2 Ylikomi T, Laaksi I, Lou YR, Martikainen P, Miettinen S, Pennanen P, Purmonen S, Syväälä H, Vienonen A, Tuohimaa P. Antiproliferative action of vitamin D. *Vitam Horm* 2002; 64: 357-406 [PMID: 11898396 DOI: 10.1016/S0083-6729(02)64010-5]
- 3 Peterlik M, Grant WB, Cross HS. Calcium, vitamin

■创新盘点

本文全面综述了VDR的结构和功能、抑制结直肠癌的作用机制、VDR基因多态性与结直肠癌发生的相关性及VDR配体类似物在药物开发研究领域的进展.

■应用要点

1,25(OH)₂D₃及其类似物具有抗增殖的作用,并且能够活化凋亡途径,抑制血管形成。因此,1,25(OH)₂D₃其类似物具有潜在抑制肿瘤作用。

- 4 Ng K, Meyerhardt JA, Wu K, Feskanich D, Hollis BW, Giovannucci EL, Fuchs CS. Circulating 25-hydroxyvitamin d levels and survival in patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2984-2991 [PMID: 18565885 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.1027]
- 5 Touvier M, Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Riboli E, Hercberg S, Norat T. Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1003-1016 [PMID: 21378269 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1141]
- 6 Campbell FC, Xu H, El-Tanani M, Crowe P, Bingham V. The yin and yang of vitamin D receptor (VDR) signaling in neoplastic progression: operational networks and tissue-specific growth control. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 1-9 [PMID: 19737544 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.09.005]
- 7 Beildeck ME, Byers SW. Vitamin D analogues in colon cancer prevention and care. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2009; 5: 185-196 [DOI: 10.1007/s11888-009-0026-5]
- 8 Thorne J, Campbell MJ. The vitamin D receptor in cancer. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 115-127 [PMID: 18412986 DOI: 10.1017/S0029665108006964]
- 9 Mullin GE, Dobs A. Vitamin d and its role in cancer and immunity: a prescription for sunlight. *Nutr Clin Pract* 2007; 22: 305-322 [PMID: 17507731 DOI: 10.1177/0115426507022003305]
- 10 Verlinden L, Verstuyf A, Van Camp M, Marcelis S, Sabbe K, Zhao XY, De Clercq P, Vandewalle M, Bouillon R. Two novel 14-Epi-analogues of 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibit the growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2000; 60: 2673-2679 [PMID: 10825140]
- 11 Kanemaru M, Maehara N, Chijiwa K. Antiproliferative Effect of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 Involves Upregulation of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p21 in Human Pancreatic Cancer Cells. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1199-1205 [PMID: 23803383 DOI: 10.5754/hge11073]
- 12 Rohan JN, Weigel NL. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 reduces c-Myc expression, inhibiting proliferation and causing G1 accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology* 2009; 150: 2046-2054 [PMID: 19164469 DOI: 10.1210/en.2008-1395]
- 13 Toropainen S, Väisänen S, Heikkinen S, Carlberg C. The down-regulation of the human MYC gene by the nuclear hormone 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 is associated with cycling of corepressors and histone deacetylases. *J Mol Biol* 2010; 400: 284-294 [PMID: 20493879 DOI: 10.1016/j.jmb.2010.05.031]
- 14 Salehi-Tabar R, Nguyen-Yamamoto L, Tavera-Mendoza LE, Quail T, Dimitrov V, An BS, Glass L, Goltzman D, White JH. Vitamin D receptor as a master regulator of the c-MYC/MXD1 network. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 18827-18832 [PMID: 23112173 DOI: 10.1073/pnas.1210037109]
- 15 Beildeck ME, Gelmann EP, Byers SW. Cross-regulation of signaling pathways: an example of nuclear hormone receptors and the canonical Wnt pathway. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1763-1772 [PMID: 20138864 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.001]
- 16 Shah S, Islam MN, Dakshanamurthy S, Rizvi I, Rao M, Herrell R, Zinser G, Valrance M, Aranda A, Moras D, Norman A, Welsh J, Byers SW. The molecular basis of vitamin D receptor and beta-catenin crossregulation. *Mol Cell* 2006; 21: 799-809 [PMID: 16543149 DOI: 10.1016/j.molcel.2006.01.037]
- 17 Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, Quintanilla M, Cano A, de Herreros AG, Lafarga M, Muñoz A. Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 2001; 154: 369-387 [PMID: 11470825 DOI: 10.1083/jcb.200102028]
- 18 Aguilera O, Peña C, García JM, Larriba MJ, Ordóñez-Morán P, Navarro D, Barbáchano A, López de Silanes I, Ballestar E, Fraga MF, Esteller M, Gamallo C, Bonilla F, González-Sancho JM, Muñoz A. The Wnt antagonist DICKKOPF-1 gene is induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 associated to the differentiation of human colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1877-1884 [PMID: 17449905]
- 19 Kaler P, Augenlicht L, Klampfer L. Macrophage-derived IL-1 β stimulates Wnt signaling and growth of colon cancer cells: a crosstalk interrupted by vitamin D3. *Oncogene* 2009; 28: 3892-3902 [PMID: 19701245 DOI: 10.1038/onc.2009.247]
- 20 Larriba MJ, Ordóñez-Morán P, Chicote I, Martín-Fernández G, Puig I, Muñoz A, Pálmer HG. Vitamin D receptor deficiency enhances Wnt/ β -catenin signaling and tumor burden in colon cancer. *PLoS One* 2011; 6: e23524 [PMID: 21858154 DOI: 10.1371/journal.pone.0023524]
- 21 Zheng W, Wong KE, Zhang Z, Dougherty U, Mustafa R, Kong J, Deb DK, Zheng H, Bissonnette M, Li YC. Inactivation of the vitamin D receptor in APC(min/+) mice reveals a critical role for the vitamin D receptor in intestinal tumor growth. *Int J Cancer* 2012; 130: 10-19 [PMID: 21328347 DOI: 10.1002/ijc.25992]
- 22 Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 684-700 [PMID: 17721433 DOI: 10.1038/nrc2196]
- 23 Zhang Y, Zhang J, Studzinski GP. AKT pathway is activated by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and participates in its anti-apoptotic effect and cell cycle control in differentiating HL60 cells. *Cell Cycle* 2006; 5: 447-451 [PMID: 16479173 DOI: 10.4161/cc.5.4.2467]
- 24 Qi X, Tang J, Pramanik R, Schultz RM, Shirasawa S, Sasazuki T, Han J, Chen G. p38 MAPK activation selectively induces cell death in K-ras-mutated human colon cancer cells through regulation of vitamin D receptor. *J Biol Chem* 2004; 279: 22138-22144 [PMID: 15037631 DOI: 10.1074/jbc.M313964200]
- 25 Kure S, Noshio K, Baba Y, Irahara N, Shima K, Ng K, Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Fuchs CS, Ogino S. Vitamin D receptor expression is associated with PIK3CA and KRAS mutations in colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2765-2772 [PMID: 19789368 DOI: 10.1158/1055-9965]
- 26 Evans SR, Nolla J, Hanfelt J, Shabahang M, Nauta RJ, Shchepotin IB. Vitamin D receptor expression as a predictive marker of biological behavior in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 1591-1595 [PMID: 9676831]
- 27 Pálmer HG, Larriba MJ, García JM, Ordóñez-Morán

- P, Peña C, Peiró S, Puig I, Rodríguez R, de la Fuente R, Bernad A, Pollán M, Bonilla F, Gamallo C, de Herreros AG, Muñoz A. The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer. *Nat Med* 2004; 10: 917-919 [PMID: 15322538 DOI: 10.1038/nm1095]
- 28 Peña C, García JM, Silva J, García V, Rodríguez R, Alonso I, Millán I, Salas C, de Herreros AG, Muñoz A, Bonilla F. E-cadherin and vitamin D receptor regulation by SNAIL and ZEB1 in colon cancer: clinicopathological correlations. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3361-3370 [PMID: 16203744 DOI: 10.1093/hmg/ddi366]
 - 29 Larriba MJ, Bonilla F, Muñoz A. The transcription factors Snail1 and Snail2 repress vitamin D receptor during colon cancer progression. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 106-109 [PMID: 20138990 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2010.01.014]
 - 30 Palmer HG, Sánchez-Carbayo M, Ordóñez-Morán P, Larriba MJ, Córdón-Cardó C, Muñoz A. Genetic signatures of differentiation induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in human colon cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 7799-7806 [PMID: 14633706]
 - 31 Ordóñez-Morán P, Larriba MJ, Palmer HG, Valero RA, Barbáchano A, Duñach M, de Herreros AG, Villalobos C, Berciano MT, Lafarga M, Muñoz A. RhoA-ROCK and p38MAPK-MSK1 mediate vitamin D effects on gene expression, phenotype, and Wnt pathway in colon cancer cells. *J Cell Biol* 2008; 183: 697-710 [PMID: 19015318 DOI: 10.1083/jcb.200803020]
 - 32 Larriba MJ, Martín-Villar E, García JM, Pereira F, Peña C, de Herreros AG, Bonilla F, Muñoz A. Snail2 cooperates with Snail1 in the repression of vitamin D receptor in colon cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1459-1468 [PMID: 19502595 DOI: 10.1093/carcin/bgp140]
 - 33 Eisfeld AK, Marcucci G, Liyanarachchi S, Döhner K, Schwind S, Maharry K, Leffell B, Döhner H, Radmacher MD, Bloomfield CD, Tanner SM, de la Chapelle A. Heritable polymorphism predisposes to high BAALC expression in acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 6668-6673 [PMID: 22493267 DOI: 10.1073/pnas.1203756109]
 - 34 Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999; 277: F157-F175 [PMID: 10444570]
 - 35 Bai YH, Lu H, Hong D, Lin CC, Yu Z, Chen BC. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1672-1679 [PMID: 22529698 DOI: 10.3748/wjg.v18.i14.1672]
 - 36 Mahmoudi T, Mohebbi SR, Pourhoseingholi MA, Fatemi SR, Zali MR. Vitamin D receptor gene ApaI polymorphism is associated with susceptibility to colorectal cancer. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2008-2013 [PMID: 19795209 DOI: 10.1007/s10620-009-0989-8]
 - 37 Gündüz M, Cacına C, Toptaş B, Yaylım-Eraltan İ, Tekand Y, İsbir T. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with colon cancer. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16: 1058-1061 [PMID: 22852885 DOI: 10.1089/gtmb.2012.0044]
 - 38 Jenab M, McKay J, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Ferrari P, Slimani N, Jansen EH, Pischon T, Rinaldi S, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Engel P, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Fisher E, Tricho-
 - poulou A, Dilis V, Oustoglou E, Berrino F, Vineis P, Mattiello A, Masala G, Tumino R, Vrieling A, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Chirlaque MD, Barricarte A, Suárez LR, Molina E, Dorronsoro M, Sala N, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Boffetta P, Autier P, Byrnes G, Norat T, Riboli E. Vitamin D receptor and calcium sensing receptor polymorphisms and the risk of colorectal cancer in European populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2485-2491 [PMID: 19706842 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0319]
 - 39 Li C, Li Y, Gao LB, Wang YY, Zhou B, Lv ML, Lu HM, Zhang L. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 634-639 [PMID: 18618252 DOI: 10.1007/s10620-008-0375-y]
 - 40 Yaylım-Eraltan I, Arzu Ergen H, Arikian S, Okay E, Öztürk O, Bayrak S, İsbir T. Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 731-737 [PMID: 17243190 DOI: 10.1002/cbf.1386]
 - 41 Bentley RW, Keown DA, Gearry RB, Cameron VA, Keenan J, Roberts RL, Day AS. Vitamin D receptor polymorphisms in colorectal cancer in New Zealand: an association study. *N Z Med J* 2012; 125: 47-51 [PMID: 22729058]
 - 42 Mahmoudi T, Karimi K, Mohebbi SR, Fatemi SR, Zali MR. Start codon FokI and intron 8 BsmI variants in the vitamin D receptor gene and susceptibility to colorectal cancer. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 4765-4770 [PMID: 21132374 DOI: 10.1007/s11033-010-0613-1]
 - 43 Hughes DJ, Hlavatá I, Soucek P, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Jenab M, Vodicka P. Variation in the vitamin D receptor gene is not associated with risk of colorectal cancer in the Czech Republic. *J Gastrointest Cancer* 2011; 42: 149-154 [PMID: 20585998 DOI: 10.1007/s12029-010-9168-6]
 - 44 Slattery ML, Herrick J, Wolff RK, Caan BJ, Potter JD, Sweeney C. CDX2 VDR polymorphism and colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2752-2755 [PMID: 18086783 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2611]
 - 45 Stubbins RE, Hakeem A, Núñez NP. Using components of the vitamin D pathway to prevent and treat colon cancer. *Nutr Rev* 2012; 70: 721-729 [PMID: 23206285 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00522.x]
 - 46 Norman AW, Bouillon R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 1034-1045 [PMID: 20667908 DOI: 10.1258/ebm.2010.010014]
 - 47 Byers SW, Rowlands T, Beildeck M, Bong YS. Mechanism of action of vitamin D and the vitamin D receptor in colorectal cancer prevention and treatment. *Rev Endocr Metab Disord* 2012; 13: 31-38 [PMID: 21861107 DOI: 10.1007/s11154-011-9196-y]
 - 48 Gulliford T, English J, Colston KW, Menday P, Moller S, Coombes RC. A phase I study of the vitamin D analogue EB 1089 in patients with advanced breast and colorectal cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 6-13 [PMID: 9662243 DOI: 10.1038/bjc.1998.434]
 - 49 Díaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D₃ and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res*

同行评价

本文选题好, 思路清晰, 语言流畅, 对该领域的广大临床和基础研究工作者有一定的帮助。

- 2000; 60: 2304-2312 [PMID: 10786699]
50 Milczarek M, Rosinska S, Psurski M, Maciejewska
M, Kutner A, Wietrzyk J. Combined colonic cancer

treatment with vitamin D analogs and irinotecan or
oxaliplatin. *Anticancer Res* 2013; 33: 433-444 [PMID:
23393334]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *Vd*, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 季宁东, 淮阴卫生高等职业技术学校 淮安市消化道肿瘤重点实验室 江苏省淮安市 223300
韩雪花, 淮安市第二人民医院 江苏省淮安市 223001
张徐宁, 副教授, 主要从事肿瘤方面的研究.
江苏省淮安市科技局科技支撑基金资助项目, No. HAS2009002-1
江苏省卫生厅医学科技发展基金资助项目, No. J200912
作者贡献分布: 张徐宁与季宁东负责课题设计; 戴翠萍、夏前正及韩雪花负责耐药细胞株构建、MTT以及Western blot检测; 数据分析、论文撰写由张徐宁与戴翠萍完成.
通讯作者: 张徐宁, 副教授, 223300, 江苏淮安市黄河西路2号, 淮阴卫生高等职业技术学校, 淮安市消化道肿瘤重点实验室.
hyzxn@aliyun.com
电话: 0517-84920540
收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-10-20
接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-11-28

Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP

Xu-Ning Zhang, Cui-Ping Dai, Qian-Zheng Xia, Xue-Hua Han, Ning-Dong Ji

Xu-Ning Zhang, Cui-Ping Dai, Qian-Zheng Xia, Ning-Dong Ji, Huaiyin Advanced Vocational and Technical Hygiene School; Huaian Key Laboratory of the Tumor of Digestive System, Huaian 223300, Jiangsu Province, China
Xue-Hua Han, Department of Pathology, Huaian Second People's Hospital, Huaian 223001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Science and Technology Bureau of Huaian City, No. HAS2009002-1; the Medical Science and Technology Development Foundation of Jiangsu Provincial Department of Health, No. J200912
Correspondence to: Xu-Ning Zhang, Associate Professor, Huaian Key Laboratory of the Tumor of Digestive System, Huaiyin Advanced Vocational and Technical Hygiene School, 2 Huaihe West Road, Huaian 223300, Jiangsu Province, China. hyzxn@aliyun.com
Received: 2013-09-02 Revised: 2013-10-20
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To establish a cisplatin (DDP)-resistant human esophageal carcinoma cell line (Eca109/DDP) and to explore the mechanisms responsible for the reversal effect of docosahexaenoic

acid (DHA) on DDP resistance.

METHODS: A DDP-resistant esophageal cancer cell line (Eca109/DDP) was established by exposure of Eca109 cells to gradually increasing doses of DDP. The effects of DHA on cell proliferation and DDP resistance in Eca109/DDP cells were determined by MTT assay. The expression level of P-glycoprotein (P-gp) was detected by Western blot.

RESULTS: After 6 mo of induction, Eca109 cells in culture medium containing 1 $\mu\text{g/mL}$ DDP grew stably and the resistant index was 15.9. DHA at concentrations $< 1.560 \mu\text{g/mL}$ had no obvious inhibition on Eca109/DDP cells ($P > 0.05$); however, DHA could enhance the cytotoxicity of DDP to Eca109/DDP cells in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). The half inhibitory concentration (IC_{50}) for DDP in Eca109/DDP cells was $3.50 \mu\text{g/mL} \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$. When combined with 0.195 $\mu\text{g/mL}$, 0.390 $\mu\text{g/mL}$, 0.780 $\mu\text{g/mL}$, or 1.560 $\mu\text{g/mL}$ of DHA, the IC_{50} for DDP decreased from $1.99 \mu\text{g/mL} \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ to $0.83 \mu\text{g/mL} \pm 0.22 \mu\text{g/mL}$ ($P < 0.05$). DHA significantly increased the reversal index and down-regulate the expression of P-gp in Eca109/DDP cells (0.99 ± 0.12 vs 0.52 ± 0.08 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: DHA possesses a reversal effect on DDP resistance in Eca109/DDP cells by down-regulating the expression of P-gp and enhancing the killing effect of DDP on drug-resistant cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Docosahexaenoic acid; Multidrug resistance; Eca109/DDP; Cisplatin; P-gp

Zhang XN, Dai CP, Xia QZ, Han XH, Ji ND. Mechanisms underlying reversal effect of docosahexaenoic acid on cisplatin resistance in human esophageal carcinoma cell line Eca109/DDP. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3695-3699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3695>

■背景资料

顺铂(cisplatin, DDP)是临床上食管癌化疗的首选药物,但食管癌细胞的多药耐药(multidrug resistance, MDR)降低了化疗药物的疗效.使用MDR逆转剂是克服MDR方法之一.目前在体外实验有效的逆转剂因其不良反应太大而不宜在临床开展.肿瘤多药耐药是指肿瘤细胞在接受化疗过程中,一旦对某种化疗药物产生耐药性,便同时对其他结构上无关、作用机制各异的药物均产生交叉耐药的广谱耐药现象.多药耐药是导致肿瘤化疗失败的主要原因之一,其耐药机制是多种因素综合的结果.

■同行评议者

张力为,教授,新疆医科大学第一附属医院胸外科

■ 研发前沿

化疗药物的多药耐药性是导致化疗最终失败的主要原因。探讨多药耐药的机制以及寻找对人体不良反应小逆转剂是当今研究的热点和重点,也是当今化疗药物使用效果不理想所亟待解决的问题。

摘要

目的: 构建食管癌耐药细胞株,探讨二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)逆转人食管癌Eca109/顺铂(cisplatin, DDP)细胞对DDP的耐药作用及其机制。

方法: 采用递增顺铂药物质量浓度持续作用诱导法建立耐顺铂细胞株;MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞增殖影响,计算耐药逆转作用,Western blot检测Eca109/DDP细胞膜P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达水平。

结果: 历经6 mo的诱导, Eca109细胞能在含1 $\mu\text{g/mL}$ DDP的培养基中稳定生长,耐药指数(resistant index, RI)为15.9; DHA浓度在1.560 $\mu\text{g/mL}$ 以下,对Eca109/DDP细胞的生长无显著抑制作用($P>0.05$),但与DDP联合应用能增加DDP对Eca109/DDP细胞的毒性且呈浓度依赖性($P<0.05$); 1 $\mu\text{g/mL}$ DDP对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度(IC_{50})为3.50 $\mu\text{g/mL} \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$,当分别与0.195、0.390、0.780、1.560 $\mu\text{g/mL}$ 的DHA联合应用时,对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度(IC_{50})从1.99 $\mu\text{g/mL} \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ 降低到0.83 $\mu\text{g/mL} \pm 0.22 \mu\text{g/mL}$ ($P<0.05$),提高逆转指数,并能显著抑制Eca109/DDP细胞P-gp表达水平, P-gp相对表达量从 0.99 ± 0.12 降至 0.52 ± 0.08 ($P<0.05$)。

结论: DHA与DDP联合应用通过下调Eca109/DDP细胞P-gp的表达水平逆转对DDP的耐药,促进DDP对耐药细胞的杀伤作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 二十二碳六烯酸; 多药耐药; Eca109/DDP; 顺铂; P-糖蛋白

核心提示: 二十二碳六烯酸随着浓度逐渐增高则表现出对Eca109/顺铂(cisplatin, DDP)细胞的增殖抑制作用,且呈浓度依赖性。而对肿瘤细胞无杀伤作用的二十二碳六烯酸与1 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂联用,可以逆转Eca109/DDP细胞的耐药性,且呈浓度依赖性,同时能显著下调P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)蛋白表达水平。初步探讨了二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid)通过下调Eca109/DDP细胞膜上P-gp的过度表达逆转肿瘤细胞的多药耐药机制。

张徐宁, 戴翠萍, 夏前正, 韩雪花, 季宁东. 二十二碳六烯酸逆转食管癌Eca109/DDP细胞对顺铂耐药的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3695-3699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3695>

0 引言

我国是食管癌的高发地带,其发病率居世界之首^[1]。顺铂(cisplatin, DDP)是临床上食管癌化疗的首选药物,但食管癌细胞的多药耐药(multi-drug resistance, MDR)降低了化疗药物的疗效^[2]。使用MDR逆转剂是克服MDR方法之一。目前在体外实验有效的逆转剂因其不良反应太大而不宜在临床开展。本研究以耐顺铂的食管癌细胞Eca109/DDP为对象,探讨二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)逆转Eca109/DDP细胞对DDP的耐药作用及机制,旨在为寻找高效、低毒肿瘤多药耐药逆转剂提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 食管癌细胞株Eca109、蛋白提取试剂盒、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒均购自南京凯基生物科技发展有限公司;二十二碳六烯酸(DHA)购自美国Sigma公司;注射用顺铂(DDP 10 mg/2 mL)购自山东齐鲁制药有限公司;RPMI 1640细胞培养液购自美国Gibco公司;小牛血清购自上海生物工程有限公司;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)购自美国Amresco公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自上海久亿化学试剂有限公司;P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)单克隆抗体购自美国Abcam公司;兔甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的二抗均购自美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人食管癌细胞Eca109在含有10%小牛血清的RPMI 1640培养液(含青霉素100 U/mL及链霉素100 $\mu\text{g/mL}$),置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L CO_2 的饱和湿度条件下培养。

1.2.2 食管癌Eca109/DDP耐药细胞的构建: 采用递增药物质量浓度持续作用诱导法^[3]构建食管癌Eca109/DDP耐药细胞。取对数生长期的Eca109细胞接种于含顺铂的RPMI 1640培养液中,从低浓度0.02 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP(根据预实验约10%的抑制浓度)开始进行培养,次日更换正常培养液,待其恢复正常生长时,增加顺铂的给药浓度,如此反复冲击,直到细胞能在含1 $\mu\text{g/mL}$ DDP的培养基中稳定生长。

1.2.3 MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞增殖的影响: 取对数生长期的Eca109/DDP细胞,

表 1 DHA对Eca109/DDP细胞生长的影响 ($n = 5$, mean \pm SD)

分组 ($\mu\text{g/mL}$)	A值	IR (%)
对照组	0.918 ± 0.051	—
DHA(0.195)	0.910 ± 0.025	0.915
DHA(0.390)	0.901 ± 0.011	1.852
DHA(0.780)	0.888 ± 0.027	3.312
DHA(1.560)	0.864 ± 0.037	5.861
DHA(3.120)	0.843 ± 0.011^a	8.148

^a $P < 0.05$ vs 对照组. DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; IR: 细胞生长抑制率.

0.25%胰酶消化, 调整细胞浓度为 5×10^4 个/mL接种于96孔细胞培养板中, 每孔接种 5×10^3 个细胞悬液, 培养24 h, 分4组处理: (1)对照组: 不加任何药物处理; (2)DDP组: 终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (3)DHA组: 倍比稀释终浓度为0.195、0.390、0.780、1.560、3.120 $\mu\text{g/mL}$ 的DHA; (4)DHA+DDP组: 先加入1 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP, 再加入上述浓度的DHA. 每组5个复孔, 继续培养72 h, MTT法测定各孔吸光度(A)值, 计算细胞生长抑制率(inhibition rate, IR). $\text{IR} = (1 - \text{实验组A均值} / \text{对照组A均值}) \times 100\%$.

1.2.4 MTT法检测DHA对Eca109/DDP细胞耐药性的逆转作用: 细胞处理同实验方法1.2.3, 按如下分组实验. (1)DDP组: 倍比稀释的终浓度为0.0625、0.125、0.250、0.500、1.00、2.00、4.00、8.00 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (2)DHA+DDP组: 上述不同浓度的DDP组中分别加入终浓度为0.195、0.390、0.780、1.560 $\mu\text{g/mL}$ 的DHA, 每组5个复孔, 培养72 h, MTT法测定A值, 计算IR, 应用SPSS17.0软件采用加权回归法(Bliss法)计算DDP对Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度(IC_{50}), 并计算细胞耐药逆转指数(reversal index, RI).

$\text{RI} = \text{IC}_{50}(\text{抗肿瘤药物}) / \text{IC}_{50}(\text{抗肿瘤药物} + \text{逆转剂})$.

1.2.5 Western blot法检测Eca109/DDP细胞膜上P-gp表达: 分2组实验: (1)DDP组: 加入终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP; (2)DHA+DDP组: 先加入终浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的DDP, 再加入终浓度为1.560 $\mu\text{g/mL}$ DHA. 每组3个平行复孔, 培养72 h. 收集细胞, 用细胞裂解液裂解细胞提取细胞总蛋白, BCA分析试剂测定各组细胞蛋白质浓度, 取样在SDS-PAGE凝胶中电泳, 将蛋白转移至NC膜

表 2 DHA+DDP对Eca109/DDP细胞生长的影响 ($n = 5$, mean \pm SD)

分组($\mu\text{g/mL}$)	A值	IR (%)
DDP(1)	0.705 ± 0.045	23.224
DHA(0.195)+DDP(1)	0.581 ± 0.030^b	36.754
DHA(0.390)+DDP(1)	0.532 ± 0.027^b	42.070
DHA(0.780)+DDP(1)	0.517 ± 0.039^b	43.704
DHA(1.560)+DDP(1)	0.452 ± 0.038^b	50.784
DHA(3.120)+DDP(1)	0.548 ± 0.031^b	40.305

^b $P < 0.01$ vs DDP(1 $\mu\text{g/mL}$)组. DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; IR: 细胞生长抑制率.

上, 加入含5%脱脂奶粉封闭, 用TBST洗膜3次, 加入一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日吸弃一抗, 再洗膜3次后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温摇床振荡反应1 h, ECL显色. Western blot图像用GelPro32软件分析灰度值, 以目的蛋白P-gp灰度值/内参蛋白GAPDH灰度值为P-gp的蛋白相对表达量.

统计学处理 用SPSS17.0统计软件对实验数据进行分析, 所有指标以mean \pm SD表示, 两样本均数比较采用 t 检验, 多样本均数比较采用方差分析. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 构建Eca109/DDP耐药细胞 采用递增药物质量浓度持续作用诱导法, 历经6 mo的诱导, Eca109细胞能在含1 $\mu\text{g/mL}$ DDP的培养基中稳定生长, RI为15.9, 定义为Eca109/DDP(耐DDP的食管癌细胞).

2.2 DHA对Eca109/DDP细胞的增殖影响 与对照组相比, 当DHA浓度在1.560 $\mu\text{g/mL}$ 以下对Eca109/DDP细胞生长无明显抑制作用($P > 0.05$)(表1), 但和1 $\mu\text{g/mL}$ DDP联合使用则浓度依赖性提高DDP对Eca109/DDP细胞生长抑制作用($P < 0.01$), 以1.560 $\mu\text{g/mL}$ DHA效果最好(表2).

2.3 DHA对Eca109/DDP细胞的耐药逆转作用 取对Eca109/DDP细胞无明显毒性作用的DHA(1.560 $\mu\text{g/mL}$ 范围以下), 与1 $\mu\text{g/mL}$ DDP联用可不同程度的逆转Eca109/DDP细胞的耐药性, 逆转作用随着DHA浓度升高, 逆转指数也在升高, 呈浓度依赖性. 与DDP组相比, 差异显著($P < 0.05$, 表3).

2.4 DHA对Eca109/DDP细胞膜上P-gp表达的影

■ 相关报道

孙思楠等研究了二十二碳六烯酸对人肝癌细胞增殖与凋亡影响及其机制, 羊轶驹等人研究的是二十二碳六烯酸与多柔比星联合用药后对人胃癌细胞SGC-7901的作用. 结果证实二十二碳六烯酸对人肝癌细胞和胃癌细胞都有杀伤作用, 同时可增加化疗药物的敏感, 也影响着癌细胞膜上P-糖蛋白的表达. 与本文二十二碳六烯酸作用于食管癌细胞结果基本一致. 不同的是, 这两篇研究的都是肿瘤的亲本细胞.

■ 创新盘点

尽管目前关于多药耐药的研究较多,但关于耐药细胞的P-gp研究不多,关于耐药食管癌细胞的P-gp表达情况未见报道。关于二十二碳六烯酸对食管癌细胞是否具有杀伤和抑制作用未见相关报道。关于二十二碳六烯酸能否通过抑制P-糖蛋白的表达逆转耐药食管癌细胞对抗食管癌药物的耐药性未见相关报道。

表 3 DHA对Eca109/DDP细胞的耐药逆转作用 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组($\mu\text{g/mL}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	RI
DDP(1)	3.50 \pm 1.04	—
DHA(0.195)+DDP(1)	1.99 \pm 0.11	1.76
DHA(0.390)+DDP(1)	1.58 \pm 0.42 ^a	2.22
DHA(0.780)+DDP(1)	1.12 \pm 0.23 ^a	3.13
DHA(1.560)+DDP(1)	0.83 \pm 0.22 ^a	4.22

^a $P < 0.05$ vs DDP(1 $\mu\text{g/mL}$)组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂; RI: 耐药逆转指数。

响 Western blot结果显示, DHA与DDP联合作用于Eca109/DDP细胞, Eca109/DDP细胞P-gp表达显著减少($P < 0.05$, 图1, 2)。

3 讨论

肿瘤多药耐药是指肿瘤细胞在接受化疗过程中,一旦对某种化疗药物产生耐药性,便同时对其其他结构上无关、作用机制各异的药物均产生交叉耐药的广谱耐药现象^[4]。多药耐药是导致肿瘤化疗失败的主要原因之一,其耐药机制是多种因素综合的结果。克服肿瘤细胞的多药耐药性已成为提高肿瘤治疗效果的热点研究^[5-8]。

P-gp是位于细胞膜的糖蛋白,是一种ATP依赖性的药物转运蛋白,能够以水解ATP产生的能量将细胞内的药物泵出,从而减少细胞内的化疗药物浓度,导致化疗药物不能有效地杀伤肿瘤细胞,引起肿瘤多药耐药^[9]。因此,肿瘤细胞膜上P-gp的过度表达或功能异常是肿瘤细胞产生MDR的重要机制之一。尽管目前关于P-gp的表达调控机制仍不是十分清楚,但普遍认为丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号通路在P-gp介导的MDR中发挥重要作用,参与了P-gp的表达调控^[10]。维拉帕米、环孢菌素A、奎宁等逆转剂因对P-gp的亲合力低,给药剂量大,对人体产生的毒性大,从而限制了临床应用。寻找高效、低毒的下调P-gp表达的逆转剂成为了控制MDR策略之一。

二十二碳六烯酸是n-3系多不饱和脂肪酸(n-3 polyunsaturated fatty, n-3 PUFA)。现有研究证实DHA能够抑制乳腺癌、肝癌等多种肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤细胞的凋亡^[11,12]。但机制尚不明确。有报道认为与调整PI3-激酶和p38 MAPK通路、激活线粒体凋亡通路有关^[12,13],冯宪光等^[14]认为与抑制Bcl-2的表达、促进Bax和

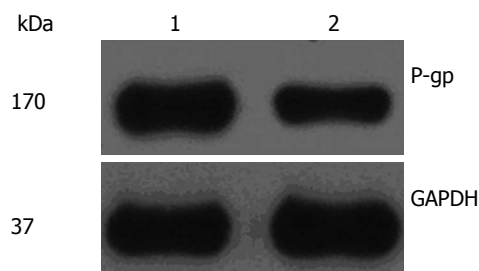


图 1 Western blot法检测DDP和DHA+DDP对P-gp表达的影响。1: DDP 1 $\mu\text{g/mL}$ 组; 2: DHA 1.560 $\mu\text{g/mL}$ +DDP 1 $\mu\text{g/mL}$ 组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂。

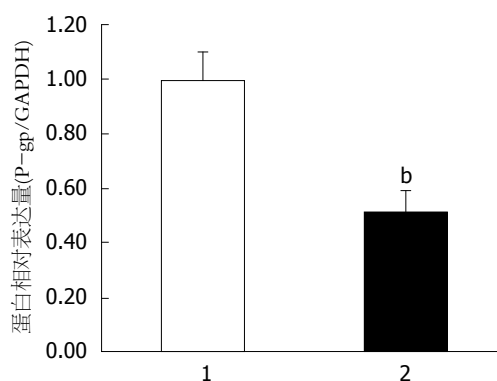


图 2 DHA+DDP对Eca109/DDP耐药细胞P-gp表达的影响。1: DDP 1 $\mu\text{g/mL}$ 组; 2: DHA 1.560 $\mu\text{g/mL}$ +DDP 1 $\mu\text{g/mL}$ 组。^b $P < 0.01$ vs DDP组。DHA: 二十二碳六烯酸; DDP: 顺铂。

Caspase3的表达有关。此外,还有实验证明DHA还可以逆转肿瘤细胞的多药耐药性,提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[15]。但二十二碳六烯酸对食管癌亲本细胞及耐药细胞是否有影响未见有文献报道。我们的实验表明DHA在低浓度($\leq 1.560 \mu\text{g/mL}$)时对Eca109/DDP细胞没有毒性,但随着浓度逐渐增高则表现出对Eca109/DDP细胞的增殖抑制作用,且呈浓度依赖性。为了减少因DHA自身对肿瘤细胞的杀伤作用而产生的实验结果误差,我们实验均选择了对Eca109/DDP无毒性DHA浓度。结果显示,1.560 $\mu\text{g/mL}$ 以下的无毒DHA和1 $\mu\text{g/mL}$ DDP联用,可以逆转Eca109/DDP细胞的耐药性,且呈浓度依赖性,同时能显著下调P-gp蛋白表达水平。初步探讨了DHA通过下调Eca109/DDP细胞膜上P-gp的过度表达逆转肿瘤细胞的多药耐药机制。关于P-gp的表达调控机制仍有待于进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 李凤英, 牛扶幼, 郑蔚. 食管癌患者术前自我管理现状调查分析. 护士进修杂志 2011; 26: 745-747
- 2 Gan SY, Zhong XY, Xie SM, Li SM, Peng H, Luo

- F. Expression and significance of tumor drug resistance related proteins and beta-catenin in esophageal squamous cell carcinoma. *Chin J Cancer* 2010; 29: 300-305 [PMID: 20193114 DOI: 10.5732/cjc.009.10599]
- 3 王开雷, 李乐平, 靖昌庆. 两种人大肠癌多药耐药株的建立及耐药性比较. *山东大学学报(医学版)* 2011; 49: 75-79, 114
 - 4 Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 273-286 [PMID: 16454744]
 - 5 Elkadi OA. MDR-selective microbial-based therapy: a novel approach to cancer treatment. *Med Hypotheses* 2013; 81: 207-211 [PMID: 23719029 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.05.001]
 - 6 Schumacher U, Nehmann N, Adam E, Mukthar D, Slotki IN, Horny HP, Flens MJ, Schlegelberger B, Steinemann D. MDR-1-overexpression in HT 29 colon cancer cells grown in SCID mice. *Acta Histochem* 2012; 114: 594-602 [PMID: 22154301 DOI: 10.1016/j.acthis.2011.11.004]
 - 7 黄军祥, 胡咏梅, 石海, 许建明. 环孢素A诱导人胃癌MGC-803细胞凋亡以及对P糖蛋白表达的影响. *中国药理学通报* 2012; 28: 1566-1570
 - 8 隋华, 周利红, 刘宣, 殷佩浩, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽, 李琦. COX-2介导MDR1/P-gp调控人结肠癌细胞多药耐药的研究. *中国癌症杂志* 2011; 21: 241-246
 - 9 Du Y, Shi WW, He YX, Yang YH, Zhou CZ, Chen Y. Structures of the substrate-binding protein provide insights into the multiple compatible solute binding specificities of the *Bacillus subtilis* ABC transporter OpuC. *Biochem J* 2011; 436: 283-289 [PMID: 21366542 DOI: 10.1042/BJ20102097]
 - 10 Derin D, Eralp Y, Ozluk Y, Yavuz E, Guney N, Saip P, Igci A, Ozmen V, Küçük S, Aslay I, Aydinler A, Topuz E. Lower level of MAPK expression is associated with anthracycline resistance and decreased survival in patients with hormone receptor negative breast cancer. *Cancer Invest* 2008; 26: 671-679 [PMID: 18608215 DOI: 10.1080/07357900801891628]
 - 11 Blanckaert V, Ulmann L, Mimouni V, Antol J, Brancquart L, Chénais B. Docosahexaenoic acid intake decreases proliferation, increases apoptosis and decreases the invasive potential of the human breast carcinoma cell line MDA-MB-231. *Int J Oncol* 2010; 36: 737-742 [PMID: 20126994 DOI: 10.3892/ijo.00000549]
 - 12 孙思楠, 李建生, 姜卫东. DHA对人肝癌细胞增殖与凋亡的影响及其机制的研究. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 44-48
 - 13 Toit-Kohn JL, Louw L, Engelbrecht AM. Docosahexaenoic acid induces apoptosis in colorectal carcinoma cells by modulating the PI3 kinase and p38 MAPK pathways. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 106-114 [PMID: 18479896 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2007.12.005]
 - 14 冯宪光, 姚文环, 刘艳, 孙克任. 二十二碳六烯酸复合物的体内抑瘤作用及其机制. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 415-419
 - 15 羊铁驹, 孙振球. 二十二碳六烯酸增加人胃癌细胞SGC-7901对多柔比星的敏感性. *肿瘤* 2012; 32: 599-604

同行评价

本文探讨二十二碳六烯酸对食管癌Eca109/DDP细胞的增殖抑制以及对食管癌多药耐药基因P-糖蛋白的影响, 为临床开发高效、低毒肿瘤多药耐药逆转剂提供实验依据. 该项研究目标明确, 实验方法科学合理, 实验结果可靠, 具有较高的临床实用价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制

林 艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是病因未明的肠道慢性非特异性炎症性疾病, 由于免疫异常是其主要发病因素, 目前治疗以对症及免疫调节为主。随着对IBD发病机制的深入研究, 许多新的治疗方法及新的药剂已应用于临床, 使IBD的治疗疗效得到改善。

林艳, 岳原亦, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

王思亮, 中国医科大学附属盛京医院肿瘤内科 辽宁省沈阳市 110001

林艳, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17

作者贡献分布: 此课题由郑长青与林艳设计; 研究过程由林艳、王思亮及岳原亦完成; 数据分析由王思亮完成; 本论文写作由林艳完成。

通讯作者: 郑长青, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。

zhengchangqing88@163.com

电话: 024-96615-26211

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-21

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice

Yan Lin, Si-Liang Wang, Yuan-Yi Yue, Chang-Qing Zheng

Yan Lin, Yuan-Yi Yue, Chang-Qing Zheng, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Si-Liang Wang, Department of Oncology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Shenyang, No. F10-205-1-17

Correspondence to: Chang-Qing Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zhengchangqing88@163.com

Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-21

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To examine if recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) could promote the recovery of 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in Balb/c mice and to analyze the potential mechanisms involved.

METHODS: Colitis was induced in Balb/c mice

by rectal administration of 5% TNBS. Three hours later, the mice were given rhG-CSF (100 µg/kg) or phosphate-buffered saline (PBS) subcutaneously once a day from day 0 to day 5. The weight loss, stool, and fecal occult blood were then recorded daily. The mice were sacrificed on day 5, and the whole colons were obtained and scored for adhesion, ulcer and inflammation. Tissue specimens from the descending colon were obtained and stained with hematoxylin and eosin. Inflammation was scored for severity, extent, epithelial damage and crypt loss. The expression of pro-inflammatory cytokine proteins IL-17 and IL-23 in colon tissues was detected by ELISA. Mesenteric lymph node (MLN) cells were prepared and cultured in vitro for 3 d to examine the expression of CD4⁺ CD25⁺ Tregs by flow cytometry.

RESULTS: Treatment with rhG-CSF significantly ameliorated murine colitis in terms of improved clinical and pathological signs. The levels of IL-17 and IL-23 were significantly lower in the colon tissues of rhG-CSF-treated mice in comparison with controls. The expression of CD4⁺ CD25⁺ Tregs in MLN cells from rhG-CSF-treated mice increased.

CONCLUSION: Treatment with rhG-CSF ameliorates murine TNBS-induced colitis via mechanisms possibly associated with the suppression of IL-23/IL-17 and promotion of CD4⁺ CD25⁺ Tregs.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor; Inflammatory bowel disease; TNBS; Th17; Regulatory T cells; Interleukin-23

Lin Y, Wang SL, Yue YY, Zheng CQ. Mechanisms underlying therapeutic effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor against TNBS-induced experimental colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3700-3705 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3700>

■同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

摘要

目的: 本研究主要探讨基因重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)治疗小鼠结肠炎的疗效并探讨其可能的作用机制。

方法: 应用5% 2,4,6-三硝基苯磺酸灌肠诱导Balb/c小鼠结肠炎症, 结肠炎小鼠随机分为2组, 在造模后3 h, 分别给予rhG-CSF或磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)皮下注射进行治疗干预, 连续6 d, 每日观察小鼠体质量、腹泻及便血情况。造模后第6天处死小鼠, 获取结肠组织, 根据黏连、溃疡及炎症计大体损伤评分; 取降结肠组织, HE染色后计病理组织评分; 获取结肠组织匀浆, 应用ELISA方法检测炎症细胞因子白介素-17(interleukin-17, IL-17)及IL-23的表达水平; 获取肠系膜淋巴结淋巴细胞, 体外培养3 d后, 应用流式细胞术检测CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达。

结果: rhG-CSF治疗组小鼠的DAI评分、大体损伤评分及病理组织评分明显低于PBS对照组; 与对照组相比rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织中IL-17及IL-23的表达水平明显减低, 而肠系膜淋巴结中CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达上调。

结论: 基因重组人粒细胞集落刺激因子改善了小鼠的结肠炎症, Th17细胞与调节性T细胞的平衡调节是其可能的作用机制。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重组人粒细胞集落刺激因子; 炎症性肠病; 三硝基苯磺酸; Th17细胞; 调节性T细胞; 白介素-23

核心提示: 本研究提示基因重组人粒细胞集落刺激因子改善了小鼠的结肠炎症, Th17细胞与调节性T细胞的分化平衡调节是其可能的作用机制。基因重组人粒细胞集落刺激因子是炎症性肠病(inflammatory bowel disease)有效的辅助治疗方法。

林艳, 王思亮, 岳原亦, 郑长青. 应用基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗小鼠炎症性肠病的作用机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3700-3705 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3700>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是

一组慢性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其病因及发病机制尚未完全阐明。目前认为IBD是一种多因素疾病, 其发病机制^[1]可能为环境及感染因素作用于遗传易感个体引起肠道异常免疫反应所致。肠道黏膜免疫异常是IBD发病的中心环节, 贯穿其发生发展的始终。研究显示调节肠道黏膜免疫, 恢复黏膜免疫耐受已成为IBD治疗的关键, 针对肠道黏膜免疫功能的调节为IBD的治疗提供了新的治疗靶点^[2]。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)作为一种造血细胞生长因子, 已被证实可作用于肠道上皮细胞, 起到增殖、分化和修复等作用^[3], G-CSF具有调节肠道黏膜先天免疫的功能, 目前已成为潜在的IBD辅助治疗方法。为了进一步明确基因重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)对IBD的治疗作用并探讨其可能的作用机制我们进行以下研究。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄的Balb/c纯系♀小鼠30只由中国医科大学动物实验室提供, 体质量18-20 g, 饲养于清洁环境; 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)购自Sigma公司; 无水乙醇购自博尔美公司; rhG-CSF购自麒麟鲲鹏(中国)生物药业有限公司; 小鼠白介素-17(interleukin-17, IL-17)、IL-23 ELISA试剂盒购自晶美生物工程有限公司; FITC-CD4荧光抗体和PE-CD25荧光抗体均购自eBioscience公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立: 全部小鼠禁食24 h不禁水, 造模前先称质量, 让小鼠前爪自由抓住笼面, 抓取小鼠尾部, 使小鼠倒立。经腹腔麻醉后, 从肛门插入直径为1.5 mm的灌胃针, 深度为3.0-4.0 cm, 缓缓注入TNBS+无水乙醇药液后拔管。捏住肛门继续保持倒立姿势30 s后将小鼠放回鼠笼。

1.2.2 分组: 小鼠结肠炎建立后被随机分为2组即rhG-CSF及磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)治疗组: 于造模后3 h经腹腔分别注射rhG-CSF(100 μg/kg)及PBS进行治疗干预, 并连续给药6 d。

1.2.3 小鼠一般状态观察: 每日观察记录小鼠生存情况, 小鼠一般状态、皮毛、食量、体质量、大便性状便血情况, 记录第1、3、5天DAI评分。

■ 研究前沿

肠道黏膜免疫系统异常是IBD发病的中心环节, 贯穿于疾病发生发展的始终。近期研究发现Th17细胞/调节性T细胞的分化失衡是IBD发生的重要原因之一。深入研究其分化平衡的调节机制必将为IBD治疗提供新的方法及靶点。

■相关报道

重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)是一种造血生长因子,具有免疫调节作用,参与肠道黏膜免疫反应,已有研究显示rhG-CSF主要通过调节先天免疫反应发挥免疫调节作用。国外相关研究显示rhG-CSF在实验动物及临床研究均显示出对于IBD治疗的有效性。

表 1 大体形态损伤评分标准

类型	得分
黏连	
无	0
轻度(结肠与其他组织剥离较易)	1
重度	2
溃疡形成及炎症	
无	0
局部充血,无溃疡	1
1处溃疡不伴充血和肠壁增厚	2
1处溃疡伴炎症	3
>2处溃疡伴炎症	4
>2处溃疡和或炎症>2cm	5
溃疡和或炎症>2cm病变范围每增加1cm计分加1	6-8

1.2.4 大体形态损伤评分: 取小鼠结肠,沿肠系膜纵行剖开,观察大体形态改变。根据黏连、溃疡形成及炎症的程度进行大体形态损伤评分。大体形态损伤评分标准如表1。

1.2.5 病理组织学评价: 取距肛门2 cm处结肠组织应用40 g/L甲醛固定,常规石蜡包埋,切片,HE染色,由经验丰富的病理科医生于电镜下评估结肠炎的严重程度。病理组织学评分标准如表2。

1.2.6 ELISA方法检测结肠组织中IL-17、IL-23的表达水平: 取中段结肠组织,冰上将结肠组织均浆后高速离心,取上清液应用ELISA方法测定IL-17及IL-23的表达水平,具体方法参照说明书。

1.2.7 流式细胞术检测肠系膜淋巴结调节性T细胞的表达: 收集小鼠肠系膜淋巴结制备细胞悬液,应用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞,将获取的淋巴细胞以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 置于培养皿中,于5%CO₂, 37 °C温箱中孵育72 h, 72 h后收集细胞,应用流式细胞术检测CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达。

2 结果

2.1 临床症状 研究显示给予rhG-CSF治疗的小鼠,腹泻便血等临床症状较对照组减轻,小鼠体质量在治疗后第3天开始恢复,于治疗后第5天体质量接近于造模前水平,已无明显腹泻及便血;而对照组小鼠腹泻及便血症状较明显,体质量恢复较慢,于治疗后第5天体质量与造模前相较下降10%-15%。rhG-CSF治疗组小鼠第5天的DAI评分为 7.3 ± 0.1 ,明显低于PBS对照组(9.5 ± 0.15 , $P < 0.05$)。

2.2 大体损伤评分 rhG-CSF治疗组小鼠结肠黏

连、溃疡及炎症较对照组明显减轻,其大体形态损伤评分为 1.33 ± 0.12 ,明显低于PBS对照组(4.6 ± 0.25 , $P < 0.01$)。

2.3 结肠组织病理损伤评分 取距肛门2 cm处结肠组织,经石蜡包埋,HE染色后于显微镜下观察可见结肠黏膜充血、出血、糜烂,黏膜层、黏膜下层中性粒细胞及其他炎性细胞浸润,病变严重小鼠从黏膜层至浆膜层弥漫性充血、出血,全层非局限性透壁性坏死;肠上皮细胞坏死脱落,甚至出现黏膜层、黏膜下层及肌层坏死脱落。rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织于显微镜下观察无溃疡形成,炎症细胞浸润范围及深度浅,而对照组镜下可见深溃疡形成,大量炎症细胞浸润, rhG-CSF治疗组病理组织评分为 11.2 ± 2.1 ,明显低于PBS对照组(15.2 ± 2.4 , $P < 0.05$)。两组病理改变对比如图1。

2.4 结肠组织中IL-17及IL-23表达水平的测定 rhG-CSF治疗组小鼠结肠组织中IL-17及IL-23的含量分别($21.66 \text{ ng/mL} \pm 2.12 \text{ ng/mL}$, $426.14 \text{ ng/mL} \pm 11.28 \text{ ng/mL}$),明显低于PBS治疗组($226.03 \text{ ng/mL} \pm 7.25 \text{ ng/mL}$, $971.12 \text{ ng/mL} \pm 12.6 \text{ ng/mL}$, $P < 0.05$)。

2.5 肠系膜淋巴结中调节性T细胞的表达 rhG-CSF治疗组调节性T细胞(regulatory t cells, Tregs)的表达率较高,而PBS组调节性T细胞的表达很低几乎检测不到, rhG-CSF治疗组的Tregs表达率与PBS组比较差异明显(2.29 ± 0.02 vs 0.26 ± 0.01 , $P < 0.05$)。两组Tregs表达对比如图2。

3 讨论

IBD是肠道慢性非特异性炎症性疾病,近年来在我国发病率呈逐年上升趋势。尽管IBD病因仍不明确,但大量证据表明IBD患者的免疫系统异常是造成炎症和组织损伤的内在因素。IBD患者的肠道黏膜存在异常的免疫应答,有大量的促炎因子和抑炎因子:前者促发疾病的产生,加速疾病进展,后者抗炎修复,抑制疾病进展,这些特征提供了临床上给予靶向生物治疗的理论依据^[4]。近年来生物制剂如英夫利昔^[5][肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)特异性抗体]已应用于临床,更多的生物制剂如IL-10、IL-6抗体等^[6,7]已进入临床实验阶段。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)对于肠道黏膜免疫系统具有调节作用,已作为IBD的辅助治疗试用于临床,成为IBD辅助治疗的又一选择。

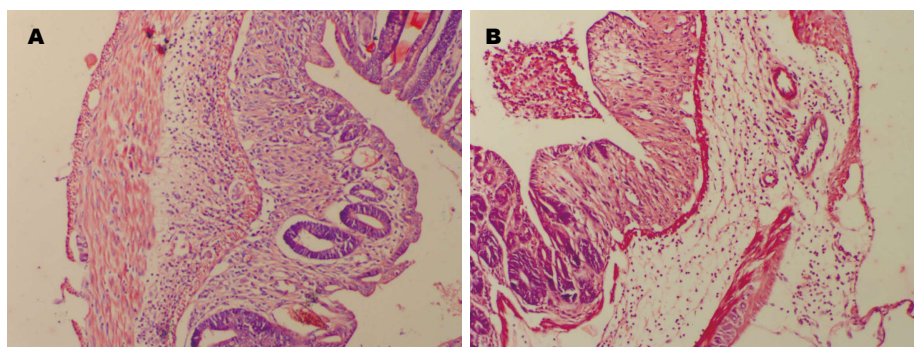


图1 rhG-CSF治疗组与PBS对照组结肠组织病理改变对比(HE × 200). A: rhG-CSF治疗组小鼠结肠可见黏膜炎症, 无明显溃疡形成; B: PBS对照组结肠组织可见黏膜大量炎症细胞浸润, 存在糜烂、溃疡. rhG-CSF: 重组人粒细胞集落刺激因子.

■创新盘点

目前rhG-CSF与IBD的研究主要集中于疗效研究, 作用机制研究较少, 本研究主要探究rhG-CSF是否通过Th17细胞/调节性T细胞的分化调节发挥作用.

表2 病理组织学评分标准

上皮损伤和溃疡形成	溃疡深度	水肿	淋巴单核浆细胞浸润	浸润深度	中性粒细胞浸润	浸润深度	嗜酸性粒细胞浸润	浸润深度	计分
无		无	无		无		无		0
糜烂	黏膜下层	轻	轻	黏膜下层	轻	黏膜下层	轻	黏膜下层	1
溃疡	肌层	中	中	肌层	中	肌层	中	肌层	2
	浆膜层	重	重	浆膜层	重	浆膜层	重	浆膜层	3

重组人粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)是一种造血生长因子, 他可以促进中性粒细胞的存活和蛋白合成, 抑制氧化代谢, 不仅在抗感染的非特异性细胞免疫中起到极其重要的作用, 而且与整个机体的免疫功能密切相关^[8]. 研究表明rhG-CSF具有免疫调节作用, 参与肠道黏膜免疫反应: rhG-CSF可通过JAK酪氨酸激酶、核因子κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)、STAT转录因子等途径, 作用在肠道上皮, 起到增殖、分化和修复等作用^[9]. Kudo等^[10]应用rhG-CSF治疗DSS结肠炎小鼠显示了较好的疗效, 而Sainathan等^[11]发现GM-CSF也同样具有改善小鼠结肠炎症的作用, 因此提示造血生长因子在调节肠道免疫, 治疗炎症性肠病方面具备潜力. 目前国外已有相关的临床研究证实rhG-CSF对于IBD患者治疗的有效性^[12], 在此研究中应用rhG-CSF有效治疗了一例UC患者, 并使其获得长期缓解.

本研究以TNBS灌肠的方法建立小鼠结肠炎模型, 经腹腔给予rhG-CSF进行治疗干预, 结果显示rhG-CSF治疗组小鼠腹泻、血便、体质量减轻等临床症状改善明显优于对照组: 其DAI评分、大体组织评分及病理组织评分均低于PBS组, 提示rhG-CSF改善了小鼠的结肠炎症, 此结果与国

外相关研究一致^[10]. 为了进一步探究rhG-CSF治疗结肠炎的可能作用机制, 探讨rhG-CSF的可能作用途径, 我们研究了rhG-CSF治疗后Th17细胞与调节性T细胞的平衡变化.

Th17细胞是近年来发现的一种新的细胞亚群, 以分泌IL-17而得名, Th17细胞除了分泌IL-17(也称IL-17A)外, 还主要分泌IL-17F、IL-21、IL-22、TNF-α、IL-6^[13]等细胞因子. 多项研究表明Th17细胞参与自身免疫反应, 是自身免疫性疾病的重要效应细胞. 近年来Th17细胞在IBD中的作用受到越来越多的关注. 研究表明IBD患者结肠黏膜表达高水平IL-17, 在活动性CD及UC中尤其明显^[14]; *IL-17RA*基因敲除小鼠建立的肠炎模型, 结肠炎症明显减轻^[15]. 无论是临床研究还是动物实验均提示Th17细胞在IBD发病机制中扮演重要角色. IL-23是炎症性肠病相关的重要细胞因子, 大量研究已经证明炎症性肠病中IL-23对促进Th1、Th17相关因子的合成发挥着关键性作用^[16]. IL-23不仅可促使肠道T细胞的增殖, 促进Th17细胞的聚集, 还可加强表达IL-17A⁺、干扰素-γ⁺(interferon-γ⁺, IFN-γ⁺)T细胞群的出现. 目前认为Th17细胞效应的IL-23/IL-17轴在IBD发生中起关键作用^[17]. 本研究显示结肠炎小鼠结肠组织IL-23和IL-17均呈高表达, 而经rhG-CSF治疗后, IL-23和IL-17的表

■应用要点

探讨基因重组人粒细胞集落刺激因子治疗结肠炎的发病机制具有重要意义,该研究结果不仅提示基因重组人粒细胞集落刺激因子可成为IBD辅助治疗方法,而且对其机制的研究可为其临床应用提供理论依据及应用指导。

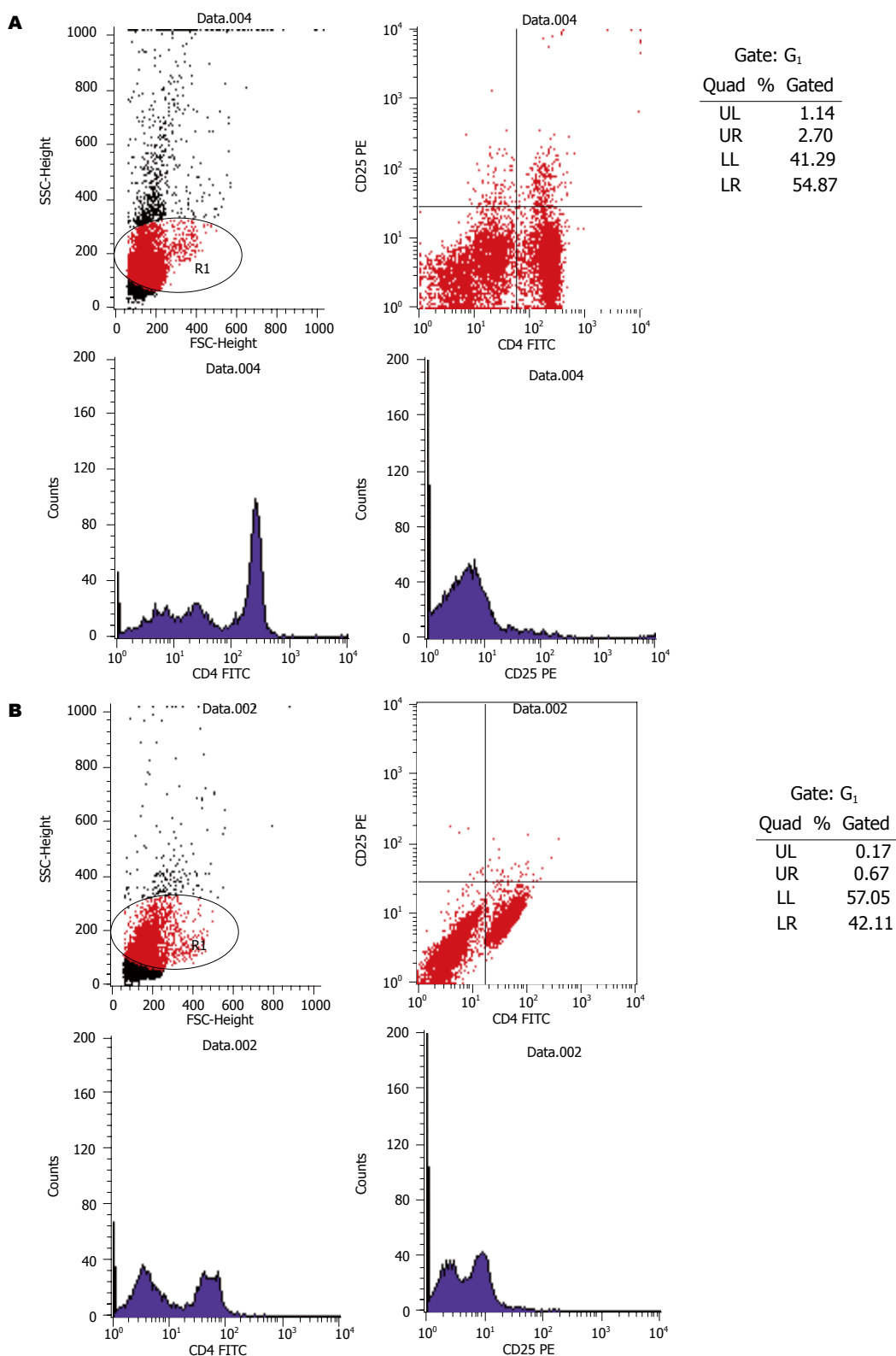


图2 rhG-CSF治疗组与PBS对照组肠系膜淋巴结调节性T细胞的表达。A: rhG-CSF治疗组肠系膜淋巴结淋巴细胞中Tregs细胞表达上调; B: PBS对照组肠系膜淋巴结淋巴细胞中Tregs细胞表达率低几乎测不出。rhG-CSF: 重组人粒细胞集落刺激因子。

达明显下降。此结果提示rhG-CSF调节肠道免疫,下调炎症反应,抑制Th17细胞分化,阻断其效应细胞因子的表达从而达到控制炎症和损伤的作用。

调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)具有抑制自身免疫反应的功能, CD4⁺CD25⁺ Tregs是维持机体内环境稳定的主要Tregs, 其功能主要通过下调自身免疫应答来诱导自身免疫耐受和

抑制自身免疫疾病的发生. 目前研究认为Th17/Tregs转化平衡是维持肠道免疫稳态的重要因素, 其平衡失常可能是导致IBD的重要原因之一^[18]. 我们的研究显示rhG-CSF治疗小鼠不仅可以下调Th17细胞因子的表达而且小鼠结肠肠系膜淋巴结中CD4⁺CD25⁺ Tregs的表达明显上调.

总之, rhG-CSF改善了小鼠的结肠炎症, 小鼠结肠组织中Th17相关细胞因子表达下调而调节性T细胞表达上调, 提示rhG-CSF的作用机制可能通过调节Th17/Tregs的平衡而实现. 而rhG-CSF如何调节Th17/Tregs的平衡转化还有待于进一步的研究.

4 参考文献

- Qin X. Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1708-1722 [PMID: 22553395]
- Cario E. Commensal-innate immune miscommunication in IBD pathogenesis. *Dig Dis* 2012; 30: 334-340 [PMID: 22796793 DOI: 10.1159/000338120]
- Krishnan K, Arnone B, Buchman A. Intestinal growth factors: potential use in the treatment of inflammatory bowel disease and their role in mucosal healing. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 410-422 [PMID: 20848489 DOI: 10.1002/ibd.21316]
- Kellermayer R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 909-915 [PMID: 23248794]
- Lopez A, Billioud V, Peyrin-Biroulet C, Peyrin-Biroulet L. Adherence to anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1528-1533 [PMID: 23518810 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828132cb]
- Kotlarz D, Beier R, Murugan D, Diestelhorst J, Jensen O, Boztug K, Pfeifer D, Kreipe H, Pfister ED, Baumann U, Puchalka J, Bohne J, Egritas O, Dalgic B, Kolho KL, Sauerbrey A, Buderus S, Güngör T, Enninger A, Koda YK, Guariso G, Weiss B, Corbacioglu S, Socha P, Uslu N, Metin A, Wahbeh GT, Husain K, Ramadan D, Al-Herz W, Grimbacher B, Sauer M, Sykora KW, Koletzko S, Klein C. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology* 2012; 143: 347-355 [PMID: 22549091 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.045]
- Waldner MJ, Neurath MF. Novel cytokine-targeted therapies and intestinal inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 702-707 [PMID: 19674937]
- Waight JD, Hu Q, Miller A, Liu S, Abrams SI. Tumor-derived G-CSF facilitates neoplastic growth through a granulocytic myeloid-derived suppressor cell-dependent mechanism. *PLoS One* 2011; 6: e27690 [PMID: 22110722]
- Mannon PJ, Leon F, Fuss IJ, Walter BA, Begnami M, Quezada M, Yang Z, Yi C, Groden C, Friend J, Hornung RL, Brown M, Gurprasad S, Kelsall B, Strober W. Successful granulocyte-colony stimulating factor treatment of Crohn's disease is associated with the appearance of circulating interleukin-10-producing T cells and increased lamina propria plasmacytoid dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 2009; 155: 447-456 [PMID: 19094118]
- Kudo T, Matsumoto T, Nakamichi I, Yada S, Esaki M, Jo Y, Ohji Y, Yao T, Iida M. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor reduces colonic epithelial cell apoptosis and ameliorates murine dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 689-697 [PMID: 18569986]
- Sainathan SK, Hanna EM, Gong Q, Bishnupuri KS, Luo Q, Colonna M, White FV, Croze E, Houchen C, Anant S, Dieckgraefe BK. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor ameliorates DSS-induced experimental colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 88-99 [PMID: 17932977]
- Alsultan A, Sokol RJ, Lovell MA, Thurman G, Ambruso DR. Long term G-CSF-induced remission of ulcerative colitis-like inflammatory bowel disease in a patient with glycogen storage disease Ib and evaluation of associated neutrophil function. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55: 1410-1413 [PMID: 20830779]
- Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28: 454-467 [PMID: 18400188]
- Seiderer J, Elben I, Diegelmann J, Glas J, Stallhofer J, Tillack C, Pfennig S, Jürgens M, Schmechel S, Konrad A, Göke B, Ochsenkühn T, Müller-Myhsok B, Lohse P, Brand S. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 437-445 [PMID: 18088064]
- Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 382-388 [PMID: 16670527]
- Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Chinen H, Kobayashi T, Sato T, Sakuraba A, Kitazume MT, Sugita A, Koganei K, Akagawa KS, Hibi T. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gamma axis. *J Clin Invest* 2008; 118: 2269-2280 [PMID: 18497880]
- Ahern PP, Schiering C, Buonocore S, McGeachy MJ, Cua DJ, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 drives intestinal inflammation through direct activity on T cells. *Immunity* 2010; 33: 279-288 [PMID: 20732640 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.08.010]
- Kitani A, Xu L. Regulatory T cells and the induction of IL-17. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S43-S46 [PMID: 19079228 DOI: 10.1038/mi.2008.51]

同行评价

本文对于炎症性肠病的发病机制的研究和潜在的临床应用具有较好的科学意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患者中的表达及临床病理意义

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥

■背景资料

食管癌为常见恶性肿瘤,世界范围内其发病率及死亡率在常见癌症中分别排第8位及第6位,在消化系统恶性肿瘤中均排第2位,仅次于胃癌。研究表明RhoA及SH2B1蛋白在肝癌、卵巢癌、肺癌中表达量较高,提示该蛋白也在肿瘤的发生发展及转移中有较大作用。本文研究了食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义。

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科 湖北省武汉市 430034

姜齐宏, 副主任医师, 主要从事消化内科及内镜的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由姜齐宏设计; 研究过程由姜齐宏与陈艳实施完成; 数据分析由陈艳与王爱祥完成; 本论文写作由姜齐宏、陈艳及王爱祥共同完成。

通讯作者: 陈艳, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路50号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科。

cy0226@163.com

电话: 027-83750309

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-21

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-11-28

Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Yan Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 50 Gutian Three Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. cy0226@163.com

Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-21

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To detect the expression of SH2B1 and RhoA in esophageal cancer and to analyze their clinicopathologic significance.

METHODS: The expression of SH2B1 and RhoA in esophageal cancer tissues and normal tissues was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rates of SH2B1 and RhoA expression were significantly higher in esophageal cancer tissues than in the normal tissues (84.2% vs 33.6%, $P = 0.028$; 79.8% vs 22.4%, $P = 0.022$). SH2B1 and RhoA expression levels were correlated with depth of invasion, TNM stage and lymph node metastasis (all $P < 0.05$), but not with gender, age, tumor type or histological grade (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: High expression of SH2B1 and RhoA is detectable in esophageal cancer tissues. The expression of SH2B1 and RhoA has close associations with clinicopathologic characteristics of esophageal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Word: Esophageal cancer; SH2B1; RhoA

Jiang QH, Chen Y, Wang AX. Clinicopathologic significance of SH2B1 and RhoA expression in esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3706-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3706.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3706>

摘要

目的: 研究食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义。

方法: 应用免疫组织化学方法检测SH2B1和RhoA在食管癌组织及正常组织中的表达情况。

结果: 134例食管癌组织中SH2B1和RhoA阳性表达率显著性高于正常组织(84.2% vs 33.6%, $P = 0.028 < 0.05$; 79.8% vs 22.4%, $P = 0.022 < 0.05$), 且SH2B1, RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关($P < 0.05$), 与患者性别、年龄、肿瘤类型、分化程度无关($P > 0.05$)。

结论: SH2B1、RhoA在食管癌组织中高表达, 且与食管癌临床病理学特征有着密切关系。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; SH2B1; RhoA

核心提示: 食管癌组织中SH2B1和RhoA阳性表达率显著性高于正常组织, 且SH2B1、RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关。

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥. 接头蛋白SH2B1和RhoA蛋白在食管癌患

■同行评议者

陈洪, 医学博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 东南大学附属中大医院消化科

者中的表达及临床病理意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3706-3709 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3706.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3706>

0 引言

食管癌为常见恶性肿瘤, 世界范围内其发病率及死亡率在常见癌症中分别排第8位及第3位, 在消化系恶性肿瘤中均排第2位, 仅次于胃癌^[1]. 食管癌按组织学分类一般可分为腺癌、鳞癌、癌肉瘤级小细胞未分化癌, 其中鳞癌、腺癌占多数(97%)^[2]. 目前认为食管癌为多因素疾病, 其发病往往由遗传及环境共同作用的结果. 主要危险因素集中在膳食失衡、饮酒、吸烟、消化系统等疾病. 目前针对食管癌的治疗方法主要有化学疗法, 放射疗法及手术疗法, 但预后效果较差, 5%-10%患者生存率可达5年, 但75%患者生存率仅1年. 故早诊断早治疗为目前唯一能有效提高食管癌患者长期生存率的方法. SH2B1为SH2蛋白家族新成员, 主要介导酪氨酸磷酸化信号转导途径. 研究表明SH2B1在非小细胞肺癌^[3], 结肠癌中表达量较高^[4], 提示该蛋白可能参与癌症的发生及转移. RhoA为小分子G蛋白Rho家族一员, 广泛参与肿瘤细胞的增殖, 凋亡级转移^[5,6]. 研究表明RhoA在肝癌、卵巢癌、肺癌中表达量较高, 提示该蛋白也在肿瘤的发生发展及转移中有较大作用.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究所有食管癌标本均来自2010-06/2013-06我院心胸外科住院手术食管癌患者134例, 距癌组织8 cm以外取正常组织. 所有食管癌组织均经临床及病理证实, 且收集术前均经患者同意且获得我院医学伦理委员会批准. 134例食管癌患者中男94例, 女40例, 年龄37-76岁, 平均59.2岁±3.1岁; 其中腺癌47例, 鳞癌87例; 根据食管癌最新国际分期标准进行分期(UICC, 2009), I A: 19例; I B: 15例; II A: 21例; II B: 34例; IIIA: 31例; IIIB: 8例; IIIC: 6例. 其中23例术前诊断为淋巴结转移, 放疗后行手术治疗. 鼠抗人RhoA、SH2B1单克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司; DAB染色试剂盒及辣根过氧化物酶标记二抗均购自武汉博士德公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用SABC法染色检测, 将标本用4%多聚甲醛固定24 h, 脱水, 包埋. 4 μm连续切片, 50 °C烤片30 min. 脱蜡处理后用

表 1 食管癌组织及正常组织中SH2B1与RhoA的表达差异的比较 ($n = 134$)

类型	SH2B1		P值	RhoA		P值
	+	-		+	-	
食管癌组织	113	21	0.028	107	27	0.022
正常组织	45	89		30	104	

3% H_2O_2 室温孵育5-10 min, 以消除内源性过氧化物酶活性. 用枸橼酸钠-微波修复抗原, 再用5%正常山羊血清室温孵育20 min, 以封闭荷电点及消除非特异性着色. 余下步骤按SABC试剂盒说明书操作.

1.2.2 结果判定: 切片制作完成后先观察整体染色, 然后在400倍镜下随机选取5个视野, 固定窗口面积, 再用细胞计数软件计数. SH2B1阳性着色主要以细胞质为主, 呈深棕色颗粒. RhoA阳性着色表现为细胞质内棕黄色颗粒. “-”表示为阴性无表达, 阳性表达细胞比率<10%; “+”表示为弱阳性表达, 阳性细胞比率在10%-30%之间; “++”表示阳性表达, 阳性细胞比率>30%.

统计学处理 采用SPSS19.0进行数据统计与分析, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 SH2B1与RhoA在食管癌组织中表达情况 食管癌组织中SH2B1阳性表达率为84.2%(113/134), RhoA阳性表达率为79.8%(107/134), 正常组织中SH2B1阳性表达率为33.6%(45/134), RhoA阳性表达率为22.4%(30/134), 两组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表1, 图1).

2.2 SH2B1、RhoA表达与食管癌临床病理因素关系 SH2B1、RhoA表达与浸润程度, TNM分期及淋巴结转移有关($P < 0.05$), 与患者性别、年龄、肿瘤类型、分化程度无关($P > 0.05$)(表2).

3 讨论

SH2B1是由Osborne等^[7]利用双酵母杂交筛选系统分离鉴定得出的蛋白. SH2B1为SH2B家族成员, 包含SH2及PH结构域, 在生长发育, 免疫调节及代谢平衡中发挥着重要调控作用^[8]. SH2B1为酪氨酸激酶受体A(tyrosine kinase receptor, TrkA)与细胞膜相连的结合蛋白, 主要介导酪氨酸磷酸化信号转导途径, 大量存在于下丘脑、肌肉、肝脏、胰脏等细胞和组织中. 研究表明

■ 研究前沿

食管癌为常见恶性肿瘤, 发病机制尚未完全明确. 本文研究了食管癌组织中接头蛋白SH2B1和RhoA的表达及临床病理意义, 目的是进一步阐明食管癌的发生机制.

■相关报道

杨辉等在RhoA在食管癌中的表达及机制研究一文中对RhoA蛋白在食管癌的机制已做了相关研究。

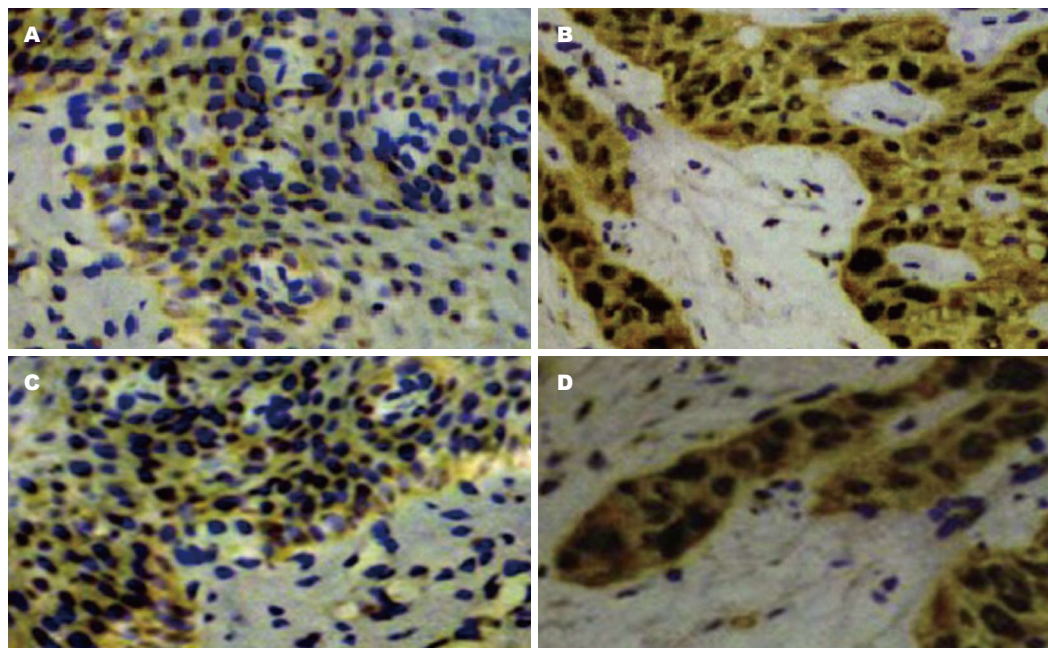


图1 SH2B1及RhoA蛋白表达情况(SABC × 400). A: SH2B1蛋白在正常组织中表达; B: SH2B1蛋白食管癌组织中表达; C: RhoA蛋白在正常组织中表达; D: RhoA蛋白食管癌组织表达。

表2 SH2B1、RhoA表达与食管癌临床病理因素关系

病例因素	SH2B1		P值	RhoA		P值
	+	-		+	-	
性别			0.784			0.843
男	81	13		62	32	
女	33	7		23	17	
年龄(岁)			0.764			0.787
≤50	69	15		72	12	
>50	44	6		43	7	
肿瘤类型			0.698			0.721
腺癌	42	5		27	20	
鳞癌	73	14		59	28	
分化程度(G)			0.761			0.812
G1+G2	79	15		64	30	
G3+G4	34	6		25	15	
浸润程度(T)			0.021			0.032
T1	15	9		13	11	
T2	27	10		25	12	
T3	33	9		30	12	
T4	28	3		16	15	
TNM分期			0.011			0.254
I	20	14		19	15	
II	38	17		35	20	
III	38	7		31	14	
淋巴结转移(N)			0.021			0.032
有	20	3		16	7	
无	90	21		62	49	

SH2B1不仅与胰岛素敏感性及血糖平衡调节, 增强神经生长因子(nerve growth factor, NGF)诱导

的神经分化有关, 还与调节体质量及能量代谢有关. 研究发现脑中SH2B1主要控制肥胖, 利用IRS1、JAK2、瘦素等调节酪氨酸酶信号转导途径, 从而调节机体正常能量代谢^[9]. 也有研究表明SH2B1蛋白参与小鼠哮喘的发病. 由于SH2B1蛋白参与血糖平衡及能量代谢等调节, 提示该蛋白可能为一种细胞周期正性调控因子. 研究发现SH2B1蛋白在结肠癌、结肠腺癌、非小细胞肺癌中表达增强, 提示SH2B1在细胞癌变过程中异常活化, 可能通过促进细胞异常增值参与细胞癌变. 本研究利用免疫组织化学检测食管癌组织及正常组织中SH2B1表达, 结果发现食管癌组织中SH2B1阳性表达率显著性高于正常组织($P<0.05$), 说明该蛋白在食管癌组织中表达异常升高. 这些结果与SH2B1在结肠癌、非细胞肺癌表达异常升高相一致, 提示SH2B1在细胞及组织癌变中发挥重要作用.

RhoA为小分子G蛋白Rho家族一员, 具有GTP酶活性, 通过对细胞骨架作用, 调节细胞与细胞, 或细胞与基质间的相互作用, 调控细胞迁移^[10]. Rho GTPases作为一种分子开关^[11], 参与非活化GDP结合形式及活化GTP结合形式间循环, 与下游分子相互作用, 参与多种细胞生理活动调节. RhoA为Rho家族成员, 与GTP结合而激活下游ROCK蛋白, 从而调节细胞收缩^[12,13], 迁移及分裂等. 因RhoA广泛参与细胞骨架重组, 细胞运动, 细胞黏附等过程, 故其可能在肿瘤的增殖、

凋亡, 血管形成, 转移等过程有关^[14,15]. 研究表明在人类许多肿瘤如卵巢癌、肺癌、肝癌及睾丸癌等肿瘤中均有异常高表达. 而且也有研究表明RhoA在食管鳞癌的转移及侵袭中发挥重要作用. 本研究利用免疫组织化学检测了其在食管癌组织及正常组织中的表达情况, 结果发现在食管癌组织中RhoA阳性表达率显著性高于正常组织($P<0.05$), 这表明RhoA在食管癌发生发展及转移中发挥重要作用.

本研究发现SH2B1与RhoA的表达与患者年龄、性别、肿瘤类型及分化程度无关, 但与肿瘤的浸润程度、分期及是否淋巴结转移相关, 这说明该两种蛋白在食管癌的转移及侵袭中发挥重要作用.

总之, SH2B1、RhoA在食管癌组织中高表达, 且与食管癌临床病理学特征有着密切关系.

4 参考文献

- 1 林称意, 郭家龙, 左顺庆, 张军, 谢斌生. 食管鳞状细胞癌中PTTG和bFGF的表达与临床病理因素的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2399-2403
- 2 张航, 段朝军, 张恒, 程远大, 张春芳. 接头蛋白SH2B1在食管癌中的表达及意义. 中南大学学报(医学版) 2013; 38: 125-131
- 3 张春芳, 陈伟, 黄琼辉. SH2-B在非小细胞肺癌中的表达. 中华实验外科杂志 2009; 10: 1360-1362
- 4 李建国, 华建江, 黄大毛. SH2-B在结肠癌组织中表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2010; 13: 2004-2007
- 5 Rathinam R, Berrier A, Alahari SK. Role of Rho GTPases and their regulators in cancer progression. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 2561-2571 [PMID: 21622195 DOI: 10.2741/3872]
- 6 Reymond N, Riou P, Ridley AJ. Rho GTPases and cancer cell transendothelial migration. *Methods Mol Biol* 2012; 827: 123-142 [PMID: 22144272 DOI: 10.1007/978-1-61779-442-1_9]
- 7 Osborne MA, Dalton S, Kochan JP. The yeast tribrid system--genetic detection of trans-phosphorylated ITAM-SH2-interactions. *Biotechnology (N Y)* 1995; 13: 1474-1478 [PMID: 9636306 DOI: 10.1038/nbt1295-1474]
- 8 Song W, Ren D, Li W, Jiang L, Cho KW, Huang P, Fan C, Song Y, Liu Y, Rui L. SH2B regulation of growth, metabolism, and longevity in both insects and mammals. *Cell Metab* 2010; 11: 427-437 [PMID: 20417156 DOI: 10.1016/j.cmet.2010.04.002]
- 9 王湘冀, 吴静, 刘炜芳. SH2B1, SOCS3和PTPIB在高脂性肥胖小鼠下丘脑中的动态变化. 中国实用医药 2010; 28: 70-71
- 10 Arpaia E, Blaser H, Quintela-Fandino M, Duncan G, Leong HS, Ablack A, Nambiar SC, Lind EF, Silvester J, Fleming CK, Rufini A, Tusche MW, Brüstle A, Ohashi PS, Lewis JD, Mak TW. The interaction between caveolin-1 and Rho-GTPases promotes metastasis by controlling the expression of alpha5-integrin and the activation of Src, Ras and Erk. *Oncogene* 2012; 31: 884-896 [PMID: 21765460 DOI: 10.1038/onc.2011.288]
- 11 何桂钧, 朱宏, 唐娜娜, 丁宗励, 郝波, 施瑞华. Wortmannin阻断P13K/AKT途径对食管癌缺氧诱导因子-1 α 及糖酵解的影响. 中华消化杂志 2012; 32: 164-169
- 12 刘飞, 刘芳, 孙玉琳, 赵晓航. 微管不稳定蛋白在食管癌细胞和组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1306-1312
- 13 刘相萍, 王海波, 刘延军. RhoA, RhoC基因在结直肠癌组织中的表达及其意义. 中华实验外科杂志 2008; 25: 888-890
- 14 李涛, 明佳, 徐竞. RhoA对失血性休克大鼠血管反应性的调节作用. 中华实验外科杂志 2009; 26: 281-283
- 15 唐发清, 李建国, 陈宇. SH2B与结肠癌细胞运动和迁移相关性的研究. 中华肿瘤防治杂志 2011; 18: 1-4

■同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 对食管癌的治疗有一定参考意义.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为

■背景资料

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 发病率为22.14/10万, 列第5位, 死亡率高, 预后差。食管癌多发生于胸中段食管, 其次为下段。中下段食管癌以经左胸一切口及Ivor-Lewis手术最为常用, 但对于这两种手术方式的优劣及选择仍存在较多争议。

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·夏合丁, 张力为, 新疆医科大学第一附属医院胸外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830054

陆国庆, 主治医师, 主要从事食管癌的治疗。

作者贡献分布: 此课题由陆国庆与张力为设计; 临床操作由居来提·艾尼瓦尔、李德生、伊力亚尔·夏合丁及张力为完成; 资料收集由陆国庆与李刚完成; 论文由陆国庆完成, 张力为指导。

通讯作者: 张力为, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院胸外科。zhangliwei@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-07-06 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma

Guo-Qing Lu, Gang Li, Ainiwaer·Julaiti, De-Sheng Li, Xiaheding·Yiliyaer, Li-Wei Zhang

Guo-Qing Lu, Gang Li, Ainiwaer·Julaiti, De-Sheng Li, Xiaheding·Yiliyaer, Li-Wei Zhang, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Li-Wei Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangliwei@medmail.com.cn

Received: 2013-07-06 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To compare the short-term efficacy and postoperative complications of Ivor-Lewis esophagectomy and one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma.

METHODS: Clinical data for 269 patients with middle or lower thoracic esophageal carcinoma who underwent surgical treatment between January 2010 and December 2012 were analyzed retrospectively, of whom 114 received Ivor-Lewis esophagectomy and 155 received one-incision

esophagectomy via the left thoracic approach. The data regarding surgical procedures and perioperative complications were compared between the two groups.

RESULTS: The number of resected lymph nodes was significantly less in the Ivor-Lewis esophagectomy group than in the one-incision esophagectomy group (16.5 ± 3.5 vs 11.6 ± 2.2 , $P < 0.001$). The rate of lymph node metastasis (15.72% vs 8.14% , $\chi^2 = 6.32$, $P < 0.05$) and the positive rate of surgical margins (0% vs 1.9% , $P < 0.05$) were statistically significant between the two groups. There was no significant difference in the rate of perioperative complications (23.7% vs 27.7% , $P > 0.05$), but the rates of respiration failure and arrhythmia were lower and the length of postoperative hospital stay were shorter in the Ivor-Lewis esophagectomy group.

CONCLUSION: Ivor-Lewis esophagectomy is superior to one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma in terms of lymph node dissection, the positive rate of surgical margin, postoperative recovery, and the rates of respiration failure and arrhythmia.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal carcinoma; Surgical procedure; Postoperative complications

Lu GQ, Li G, Ainiwaer Julaiti, Li DS, Xiaheding Yiliyaer, Zhang LW. Ivor-Lewis esophagectomy versus one-incision esophagectomy via the left thoracic approach in the treatment of middle and lower thoracic esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3710-3714 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3710.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3710>

摘要

目的: 比较Ivor-Lewis手术与经左胸一切口手术治疗中下段食管癌的优缺点及术后并发症发生的差异。

■同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

方法: 回顾性分析2010-01/2012-12收治的269例中下段食管癌手术资料, Ivor-Lewis 114例, 左胸一切口155例, 比较两组患者手术相关参数以及围手术期并发症。

结果: Ivor-Lewis手术组和经左胸组淋巴结清扫平均数分别是16.5枚±3.5枚和11.6枚±2.2枚($P<0.001$); 上纵隔淋巴结转移率分别是15.72%、8.14%($\chi^2 = 6.32, P<0.05$); 上切缘阳性率分别为0%、1.9%($P<0.05$); 术后两组并发症发生率分别是23.7%、27.7%($P>0.05$), 呼吸衰竭及心律失常发生率低于左胸组; 术后住院日低于左胸组。

结论: Ivor-Lewis手术治疗中下段食管癌, 在淋巴结清扫及上切缘阳性率, 术后患者恢复方面有一定优势, 术后心肺并发症少。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; 手术方式; 术后并发症

核心提示: Ivor-Lewis和经左胸一切口手术在清扫淋巴结的数目、上切缘阳性率、术后心肺并发症, 以及术后患者的恢复等方面, Ivor-Lewis有一定优势。具有术后恢复快的优点。尤其适用于高龄患者或心肺功能欠佳的患者。

陆国庆, 李刚, 居来提·艾尼瓦尔, 李德生, 伊力亚尔·复合丁, 张力为. Ivor-Lewis与左胸一切口治疗食管中下段癌的近期疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3710-3714 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3710.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3710>

0 引言

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 发病率为22.14/10万, 列第5位, 死亡率高, 预后差, 近年来有年轻化的趋势。食管癌存在着显著的地域分布差异, 欧美国家以胸下段食管和食管胃交界部腺癌为主, 而我国95%以上为鳞癌。食管癌多发生于胸中段食管, 其次为下段^[1]。目前, 首选的治疗方法仍是外科手术治疗, 常用手术方式包括经左胸一切口手术、Ivor-Lewis手术、经上腹、右胸及左颈三切口手术等。对于中下段食管癌, 以经左胸一切口及Ivor-Lewis手术最为常用, 但对于这两种手术方式的优劣及选择仍存在较多争议, 不同术者对手术方式的选择存在一定偏好。我院在这部分患者手术方式的选择上, 通常结合主刀医师的操作习惯及患者对手术方式充分知情同意的基础上作出决定, 本文

对我院近两年采用Ivor-Lewis及经左胸一切口手术完成的269例中下段食管癌手术进行回顾与总结, 比较上述两种食管中下段癌常用术式在术后早期结果方面的优劣, 从而为食管中下段癌患者选择合理手术方式提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院胸外2010-01/2012-12进行的269例中下段食管癌手术资料, 经左胸一切口155例, Ivor-Lewis组114例。男197例, 女72例, 年龄30-84岁, 平均年龄为58.5岁。术前均行胃镜, 上消化道造影钡餐造影, 胸部及上腹部CT, 术后肿瘤TNM分期按UICC 2009年标准。胸腹部淋巴结清扫范围参照AJCC食管癌淋巴结清扫分布图。一般资料如表1。

1.2 方法 手术患者选择: (1)术前均诊断为中下段食管癌; (2)术前临床分期 I -III期; (3)无明确手术禁忌。Ivor-Lewis组: 取仰卧位, 上腹部正中切口, 游离胃, 直线型切割缝合器切除贲门、部分胃底、胃小弯及小弯侧脂肪组织, 制作内径约4 cm管状胃, 清扫贲门、胃左动脉周围淋巴结, 扩大食管裂孔, 经膈肌食管裂孔向上游离下段食管, 更换左侧卧位, 经右胸后外侧第5肋间进胸, 不常规断奇静脉, 若肿瘤外侵明显, 断奇静脉, 游离食管, 距肿瘤上缘5 cm以上切断食管, 清扫上纵隔、食管旁、隆突下、肺门区、右侧喉返神经旁淋巴结。行右侧胸内高位吻合, 采用吻合器吻合, 胃残端采用闭合器闭合。左胸一切口组: 取右侧卧位, 左侧后外侧切口经第6肋间进胸, 游离食管至主动脉弓以上, 清扫上纵隔、食管旁、隆突下、肺门区淋巴结, 打开膈肌游离胃, 清扫贲门、胃左动脉周围淋巴结, 距肿瘤上下切缘5 cm切断食管及胃组织, 制作管状胃并行主动脉弓上吻合^[2]。

统计学方法 采用SPSS17.0软件进行数据分析。计量资料以mean±SD表示, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种术式参数比较 淋巴结清扫情况Ivor-Lewis手术组评价淋巴结清扫为16.5枚±3.5枚, 经左胸组11.6枚±2.2枚($t = 50.58, P<0.001$)。胸腔淋巴结清扫情况Ivor-Lewis组10.2枚±1.1枚, 上纵隔淋巴结转移率为15.72%(89/566); 左胸组8.4枚±1.3枚, 上纵隔淋巴结转移率为

■ 研发前沿

食管癌是一种侵袭性较强的恶性肿瘤, 纵隔、腹腔、颈部淋巴结的转移率高, 是预后差的恶性肿瘤之一。Ivor-Lewis对于胸部右侧及腹部的淋巴结清扫有更大的优势。近期生存率及术后并发症的发生率方面两种手术有无区别。

■相关报道

目前Ivor-Lewis手术相关报导文献中有改良版Ivor-Lewis手术的报导,简化了手术方法,节省了手术时间,但此种术式还未被普遍应用。

表 1 269例接受手术治疗中下段食管癌患者资料 $n(\%)$

特征	Ivor-Lewis	左胸	χ^2	P值
性别				
男	85(74.6)	112(72.3)	0.18	>0.05
女	29(25.4)	43(27.7)	0.18	>0.05
民族				
汉族	58(50.9)	74(47.7)	0.26	>0.05
少数民族	56(49.1)	81(52.3)	0.26	>0.05
年龄(岁)				
<60	47(41.2)	49(31.6)	0.01	>0.05
≥60	67(58.8)	106(68.4)	0.01	>0.05
BMI(kg/m ²)	21.8±5.2	22.2±4.8	0.65	>0.05
吸烟人数	82(71.9)	95(61.3)	3.30	>0.05
FEV1(mL)	86.4±21.2	87.1±20.5	0.27	>0.05
肿瘤(cm)				
<3	17(14.9)	15(9.7)	1.72	>0.05
3-5	75(65.8)	96(61.9)	0.42	>0.05
>5	22(19.3)	44(28.4)	0.42	>0.05
TNM				
I期	12(10.5)	18(11.6)	0.08	>0.05
II期	54(47.4)	72(46.5)	0.02	>0.05
III期	48(42.1)	65(41.9)	0.12	>0.05

8.14%(14/172). 两组上纵隔淋巴结转移数之间差异有统计学意义($\chi^2 = 6.32, P < 0.05$). 腹腔淋巴结清扫情况: Ivor-Lewis 6.3枚±1.1枚, 左胸组3.2枚±0.9枚. Ivor-Lewis组淋巴结共清扫1881枚, 淋巴结转移率(阳性淋巴结)为16.6%(315/1881). 左胸组淋巴结共清扫1798枚, 淋巴结转移率(阳性淋巴结)为23.6%(425/1798)(表2).

2.2 切缘阳性率的比较 Ivor-Lewis手术组和经左胸组上切缘阳性率分别为0%(0/114)、1.9%(3/155)($\chi^2 = 4.33, P < 0.05$), 两组有统计学意义. 经左胸组有1例为上切缘不典型增生统计为上切缘阳性结果.

2.3 术后并发症的比较 患者围手术期死亡Ivor-Lewis手术组2例, 经左胸组5例. 两组围手术期死亡率方面无明显统计学意义($\chi^2 = 0.13, P > 0.05$). 术后共有71例患者出现并发症, Ivor-Lewis手术组为27例, 左胸组43例(表3).

3 讨论

食管癌是一种侵袭性较强的恶性肿瘤, 纵隔, 腹腔, 颈部淋巴结的转移率高, 是预后差的恶性肿瘤之一. 目前外科手术治疗仍是食管癌的首选治疗方案, 手术方式包括: Ivor-Lewis食管癌手术, 经左胸一切口, 经右胸、上腹、颈部三切口,

经左胸、食管胃颈部吻合两切口等. 近几年来, 微创食管癌根治术亦得到了迅猛发展. 然而就选择何种最佳手术方式, 仍无公认的标准. 无论何种手术方式其评价标准自然是提高远期的生存率, 降低肿瘤复发转移, 减少围手术期并发症的发生^[3]. 本研究回顾性的分析了目前较为普遍采用的Ivor-Lewis手术和经左胸手术方式, 意在为选择一个较为理想的手术方式提供一定的临床参考.

两组在手术时间上Ivor-Lewis采用右胸后外侧切口+上腹部正中切口, 术中变换体位, 增加了手术时间. 近来出现了改良的Ivor-Lewis手术, 其采用右胸前外侧切口+上腹部正中切口, 相对简化了手术过程, 缩短了手术时间^[4]. 经左胸一切口具有手术时间短, 术中出血少等优势^[5].

淋巴结清扫彻底与否以及切缘的阳性与否是影响食管癌外科治疗预后的关键因素^[6]. 有研究表明胸部中上段纵隔淋巴结是食管癌复发转移的常见区域^[7]. 由于两侧胸部解剖结构的差异, 所以选择手术方式对清扫淋巴结和上切缘的高度有影响. Ivor-Lewis对于胸部右侧及腹部的淋巴结清扫有更大的优势, 术中能彻底清扫2R、4R、10R、右9组淋巴结, 其中2R、4R组是比较容易转移的淋巴结. 而左胸组对主动脉弓上食管暴露较差, 限制了食管切除的长度及淋巴结清扫, 无法很好的清扫气管旁和喉返神经旁淋巴结. 就目前研究显示纵隔淋巴结清扫对预后有着明显的影响^[8]. 左胸一切口切除食管长度受限, 因而增加了上切缘阳性率的发生.

术后并发症方面: (1)左胸组在呼吸衰竭及心律失常发生率较高考虑为经左胸组胸部手术操作时间长, 对心肺功能影响大, 且切开膈肌时膈神经的分支受损造成膈肌麻痹, 而右侧开胸胸部操作时间短, 术中膈肌受到一定保护, 保持估计完整性, 降低手术对患者呼吸功能损害, 对心肺功能影响小, 因而心脏及肺部并发症较少^[9]; (2)Ivor-Lewis胸腔胃滞留发生率较高. 与术后胃蠕动功能未能完全恢复和迷走神经干切断后导致幽门排空障碍, 以及胸胃未能适当的固定在食管床中, 致使胃在膈肌裂孔处受压所致. Ivor-Lewis组喉返神经损伤较高, 考虑与较多病变位于隆突之上和经右胸清扫2R组淋巴结有关, 增加了右喉返神经损伤的几率; (3)右侧开胸便于游离胸导管, 易于结扎^[10]. 术后应用镇痛泵有利于术后患者的恢复, 减少术后并发症的发生^[11].

总之, Ivor-Lewis和经左胸一切口手术都可

表 2 两组手术参数比较

分类	Ivor-Lewis	左胸	统计值	P值
手术时间(min)	276.2 ± 46.6	212.1 ± 36.5	12.65	< 0.05
出血量(mL)	225.5 ± 62.2	192.8 ± 50.6	4.75	< 0.05
淋巴结清扫(枚)	16.5 ± 3.5	11.6 ± 2.2	15.4	< 0.05
术中补液量(L)	3.4 ± 0.5	2.9 ± 0.4	9.1	< 0.05
术中输血n(%)	15(13.2)	22(14.2)	0.06	> 0.05
镇痛泵n(%)	75(65.8)	46(29.7)	34.6	< 0.05
术后住院日(d)	12.6 ± 3.8	13.8 ± 4.6	2.27	< 0.05
ICU住院日(d)	0.87 ± 0.4	0.92 ± 0.3	1.17	> 0.05
带鼻胃管时间(d)	6.5 ± 1.2	6.7 ± 0.9	1.56	> 0.05
经口进食时间(d)	7.2 ± 0.4	7.5 ± 0.3	7.03	> 0.05

表 3 两组术后并发症比较 n(%)

并发症	Ivor-Lewis	左胸	χ^2	P值
肺部感染	4(3.5)	5(3.2)	2.90	> 0.05
心律失常	2(1.8)	11(7.1)	4.07	< 0.05
喉返神经损伤	7(6.1)	2(1.3)	3.60	< 0.05
吻合口瘘	1(0.9)	3(1.9)	0.04	> 0.05
乳糜胸	2(1.8)	5(3.2)	0.13	> 0.05
胃潴留	5(4.4)	0(0)	4.73	< 0.05
切口感染	3(2.6)	2(1.3)	0.12	> 0.05
脓胸	1(0.9)	3(1.9)	0.04	> 0.05
呼吸衰竭	2(1.8)	12(7.7)	4.77	< 0.05
合计	27(23.7)	43(27.7)	0.56	> 0.05

作为中下段食管癌的手术方式。在清扫淋巴结的数目、上切缘阳性率、术后心肺并发症以及术后患者的恢复等方面, Ivor-Lewis有一定优势。近来国内外相关文献报导行较为完整的两野淋巴结清扫, 有较好的5年生存率, 可达到49%-55%左右, 相比经左胸一切口提高了15%左右^[12,13]。而且Ivor-Lewis手术降低了心肺并发症的发生, 具有术后恢复快的优点^[14]。尤其适用于高龄患者或心肺功能欠佳的患者^[15]。由于本研究的资料为近期病例, 故3年、5年生存率随访仍未完成。

4 参考文献

- 1 吴孟超, 吴在德. 黄家驷外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2008
- 2 郭兰敏, 范全心, 邹承伟. 实用胸心外科手术学(第3版). 北京: 科学出版社, 2010: 675
- 3 Donahue JM, Nichols FC, Li Z, Schomas DA, Allen MS, Cassivi SD, Jatoi A, Miller RC, Wigle DA, Shen KR, Deschamps C. Complete pathologic response after neoadjuvant chemoradiotherapy for esophageal cancer is associated with enhanced survival. *Ann Thorac Surg* 2009; 87: 392-398; discussion 392-398 [PMID: 19161745]
- 4 朱晓峰, 王洲, 陈福庆, 刘相燕, 于洋, 刘凡英. 改良Ivor-Lewis术与经左胸左颈二切口根治术治疗胸中段食管鳞癌的疗效的比较. *肿瘤* 2009; 12: 1153
- 5 罗强, 蓝碧洋, 钟醒能, 黄绍华, 张晓安, 黄斯阳. 两种径路治疗胸中段食管癌的手术评价. *河北医学* 2012; 18: 50-51
- 6 毛友生, 赫捷, 程贲. 我国食管癌外科治疗的现状与未来对策. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 401-404
- 7 Zheng YZ, Dai SQ, Li W, Cao X, Wang X, Fu JH, Lin P, Zhang LJ, Lu B, Wang JY. Comparison between different reconstruction routes in esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5616-5621 [PMID: 23112556 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5616]
- 8 蒋耀光, 赵云平. 食管癌诊疗新进展. *中华消化外科杂志* 2007; 6: 401-403
- 9 Lerut T, Moons J, Coosemans W, Van Raemdonck D, De Leyn P, Decaluwé H, Decker G, Nafteux P. Postoperative complications after transthoracic esophagectomy for cancer of the esophagus and gastroesophageal junction are correlated with early cancer recurrence: role of systematic grading of complications using the modified Clavien classification. *Ann Surg* 2009; 250: 798-807 [PMID: 19809297 DOI: 10.1097/sla.0b013e3181bdd5a8]
- 10 周源, 汪栋, 韩开宝, 孙宏志, 许罡, 路东明, 张剑锋. 胸中段食管癌手术径路的个体化选择. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 32-35

■创新盘点

食管癌是我国常见的一种恶性肿瘤, 尤其在新疆多民族地区, 哈萨克族发病率比较高, 与其他以汉族人群为主要研究对象的文献有所区别。

■同行评价

本文属回顾性临床经验总结, 内容简明有特点, 研究目的、各种数据与结论相符。研究方法和技术有可比性, 实验对照的设计较合理可靠, 统计学处理方法的使用恰当, 结论较明确。对临床工作具有一定指导意义。

- 11 苗栓林, 苗满园, 刘洪涛, 李伟, 李仁栓, 李玉强. Ivor Lewis术式治疗食管中下段癌65例临床分析. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1737-1738
- 12 邢军, 陆辉辉, 李文韬, 赖习华, 朱炳南, 胡海涛. 不同方式中下段食管癌跟事实特点及疗效的对比分析. 临床军医杂志 2012; 8: 823-825
- 13 Chen G, Wang Z, Liu XY, Zhang MY, Liu FY. Clinical study of modified Ivor-Lewis esophagectomy plus adjuvant radiotherapy for local control of stage IIA squamous cell carcinoma in the mid-thoracic esophagus. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009; 35: 1-7 [PMID: 18926712 DOI: 10.1016/j.ejcts.2008.09.002]
- 14 杨弘, 傅剑华. 以手术为主的食管癌综合治疗新进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3471-3475
- 15 Pellen MG, Sabri S, Razack A, Gilani SQ, Jain PK. Safety and efficacy of self-expanding removable metal esophageal stents during neoadjuvant chemotherapy for resectable esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2012; 25: 48-53 [PMID: 21595778 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01206.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治

荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧

荣亮, 李可, 郑森元, 刘慧敏, 侯慧, 新疆医科大学第五附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

刘芳, 新疆医科大学第五附属医院老年病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

荣亮, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李可设计; 研究过程由李可与荣亮操作完成; 数据分析与论文写作由荣亮与郑森元完成; 论文修改由李可完成; 刘芳、刘慧敏及侯慧负责数据的调查与收集。

通讯作者: 李可, 副教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市河南西路118号, 新疆医科大学第五附属医院消化科。

635323650@qq.com

电话: 0991-7924597

收稿日期: 2013-08-11 修回日期: 2013-09-13

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment

Liang Rong, Ke Li, Sen-Yuan Zheng, Fang Liu, Hui-Min Liu, Hui Hou

Liang Rong, Ke Li, Sen-Yuan Zheng, Hui-Min Liu, Hui Hou, Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Fang Liu, Department of Gerontology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ke Li, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 635323650@qq.com

Received: 2013-08-11 Revised: 2013-09-13

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To explore the prevalence of symptomatic gastroesophageal reflux disease (GERD) and reflux esophagitis (RE) in a Uygur adult population in Urumqi, to identify the risk factors for GERD, and to explore the preventive treatment of this disease in some patients.

METHODS: A total of 3000 Uygur residents aged from 18 to 78 years old were studied, and

2980 patients completed the study. This study was performed by clustering, stratifying and simple random sampling. Symptom scores were calculated using the GerdQ scale (the highest score is 18). GerdQ score ≥ 8 indicated the presence of symptomatic GERD. Subjects with a GerdQ score ≥ 8 were included in the observation group, and those with a GerdQ score < 8 were assigned to the control group. A case-control study was also performed in some subjects to confirm the diagnosis of GERD and RE. Multivariable logistic regression analysis was performed to analyze risk factors for GERD. In addition, 53 subjects with GERD were divided into an esomeprazole group, a cimetidine group, and a lifestyle changes group to receive 4 weeks of treatment, and the treatment effects were compared.

RESULTS: Of 2980 subjects who completed the survey, 468 (15.6%) had symptomatic GER (GerdQ score ≥ 8), and the male-to-female ratio was 1.07:1. The correct incidence was 72.86%. Estimated prevalence for GERD and RE was 11.44% and 2.92%, respectively. High-fat diet (OR = 7.964), drinking (OR = 3.804), drinking strong tea (OR = 2.758), abdominal obesity (OR = 2.713), greasy food (OR = 2.408) and *Helicobacter pylori* infection (OR = 0.186) were factors associated with the development of GERD. The rates of symptom improvement for the esomeprazole group, cimetidine group and lifestyle change group were 88.24%, 47.06% and 26.32%, respectively.

CONCLUSION: GERD is a multi-factorial disease. High-fat diet, drinking, drinking strong tea, abdominal obesity, and greasy food are risk factors for GERD, while *Helicobacter pylori* infection is a protective factor for GERD. Changing eating habits and lifestyle is helpful in controlling GERD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

■背景资料

胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 在西方国家比较常见, 其患病率约为 20%-40%, 亚洲地区约为 5%-17%, 中国的 GERD 患病率总体呈现出南低北高的趋势。本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群 GERD 的患病水平并分析相关危险因素, 旨在为当地 GERD 的预防与治疗提供依据。

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■研究前沿

本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病水平并分析相关危险因素,有助于我们需积累更多的临床治疗经验,寻求治疗效果与医疗费用的平衡。

Key Words: Uygur; Gastroesophageal reflux disease; Reflux esophagitis

Rong L, Li K, Zheng SY, Liu F, Liu HM, Hou H. Symptomatic gastroesophageal reflux disease among Uygur residents in Urumqi: An epidemiological study and preventive treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3715-3719 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3715.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3715>

摘要

目的: 了解乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)和反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)在2013-02/2013-04调查时的患病率及其相关危险因素,并选取部分患者进行干预治疗。

方法: (1)对本市区18-78岁维吾尔族常住人口进行整群、分层、随机抽样的问卷调查,样本量为3000例,完成者2980例。根据胃食管反流病问卷(gastroesophageal reflux disease questionnaire, GerdQ)行症状积分(症状积分分值最高18分),症状积分分值 ≥ 8 表明存在症状性反流,并且将症状积分分值 ≥ 8 的人群作为观察组,症状积分分值 < 8 的人群作为对照组;随机抽取观察组与对照组部分反流阳性的患者进行胃镜、24 h pH值监测等作精查,根据精查的正确率对普查结果校正后测算出患病率;(2)采用多因素Logistic回归分析影响症状性反流的因素;(3)确诊为GERD的53例患者被随机分为埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组),治疗4 wk后比较症状改善情况。

结果: (1)共2980例完成筛查,男女之比为1.07:1,样本中症状积分分值 ≥ 8 者468例(15.60%),精查正确率为72.86%,据此推算GERD的患病率为11.44%,RE为2.92%;(2)高脂饮食[优势比(odds ratio, OR) = 7.964]、饮酒(OR = 3.804)、饮浓茶(OR = 2.758)、腹型肥胖(OR = 2.713)、饱食(OR = 2.408)、幽门螺杆菌感染(OR = 0.186)与胃食管反流症状存在相关性;(3)埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)干预治疗4 wk后,症状改善率分别为88.24%、47.06%和26.32%。

结论: GERD为多发疾病,高脂饮食、饮酒、饮浓茶、腹型肥胖、饱食是GER的危险因素,幽门螺杆菌感染是GER的保护因素。改变饮食习惯及生活方式对控制胃食管反流症状有益。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维吾尔族; 胃食管反流病; 反流性食管炎

核心提示: 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)为多发疾病;高脂饮食、饮酒、饮浓茶、腹型肥胖、饱食是症状性反流(GER)的危险因素,幽门螺杆菌感染是GER的保护因素。改变饮食习惯及生活方式对控制胃食管反流症状有益。

荣亮, 李可, 郑森元, 刘芳, 刘慧敏, 侯慧. 乌鲁木齐市维吾尔族人群胃食管反流症状的流行病学调查及防治. *世界华人消化杂志* 2013; 21(33): 3715-3719 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3715.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3715>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)在西方国家比较常见,其患病率约为20%-40%,亚洲地区约为5%-17%^[1],中国的GERD患病率总体呈现出南低北高的趋势,据报道一些因素如性别、年龄、体质量指数、教育程度、吸烟、饮酒、油腻食物、药物使用、幽门螺杆菌感染等与GERD发病有关^[2]。新疆维吾尔族居民饮食以肉制品及奶制品为主,脂肪与蛋白质含量高,因反酸、烧心症状就诊者人数众多,对患者生活质量有很大影响。本文调查了乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病水平并分析相关危险因素,旨在为当地GERD的预防与治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 以各城区为单位进行整群随机抽样调查,所有研究对象均为本市区常住维吾尔族居民(居住3年以上),共3000例,18-78岁,排除长期外出或因病无法调查者。

1.2 方法

1.2.1 调查内容和方式: 根据市统计局提供的资料,按照乌鲁木齐市维吾尔族人口年龄、性别构成,根据文献[3],乌鲁木齐市与克拉玛依市同处于北疆地区,但考虑到少数民族饮食习惯等危险因素,假设发病率为9%,计算样本含量约2700例,考虑样本可能缺失情况,实际抽样3000例,完成问卷调查者2980例,男女之比为1.07:1。样本覆盖人群:本市区常住维吾尔族人口309853人,18-78岁人群占本市常住维吾尔族人口的79.32%。样本量3000例,覆盖各年龄组人群为 $3000/79.32\% = 3782$ 例,调查结束后,选取部分

表 1 胃食管反流问卷内容 (n)

项目	从未有过	1 d/wk	2-3 d/wk	4-7 d/wk
烧心	0	1	2	3
反流	0	1	2	3
上腹痛	3	2	1	0
恶心	3	2	1	0
睡眠障碍	0	1	2	3
服用药物	0	1	2	3

被调查者的问卷由另人复核, 正确率为97.42%。采用集中调查, 对研究对象进行问卷调查。问卷内容涉及反流症状、发生频度及程度、伴随症状以及疾病、饮食习惯、生活方式和危险因素等。

1.2.2 症状评分及统计: 调查时采用中文版胃食管反流病问卷(gastroesophageal reflux disease questionnaire, GerdQ)(表1): 问卷包括了6个问题, 使患者回忆过去一周内各个症状发生的频率, 其中包含4个反流相关症状问题, 即阳性问题: 烧心、反流, 症状对睡眠的影响, 患者需要服用非处方药来缓解症状的情况; 2个反流负相关症状的问题, 即阴性问题: 上腹痛和恶心, 症状积分最高分为18分。将调查资料输入电脑, 分档统计。以症状积分分值 ≥ 8 作为症状性反流的诊断标准, 其中症状积分分值 ≥ 8 共468例, 占总调查人数的15.60%, 症状积分分值 < 8 共2512例, 占总调查人数的83.73%。将上述468例的反流人群作为观察组, 将上述2512例的非反流人群组作为对照组, 以这段时间内有反流症状人群的检出率代表患病率。采用多因素Logistic回归分析年龄、腹型肥胖、生活习惯、饮食习惯、幽门螺杆菌感染情况等与症状性反流之间的关系。

1.2.3 精查: 在2980例普查人群中, 按反流症状积分高低, 随机抽签, 对GerdQ分数 ≥ 8 的70例及GerdQ分值 < 8 的30例做了进一步精查, 以除外伴随器质性疾病并确定GERD的诊断。精查项目包括体格检查, 常规化验, 血生化、心电图、胸片、肝、胆、胰、脾; 并均行 ^{14}C -呼气试验、无痛胃镜检查及24 h pH监测。胃镜下观察有无食管炎, 按照洛杉矶国际消化会议(第十届)制定的内镜分级标准进行分级诊断。24 h pH监测采用DigiTrapper NK III型携带式pH仪(欧洲CTD-SYNECTCS公司产品)监测记录。24 h内pH < 4 总时间百分率 $\geq 4\%$ 和/或总反流次数 ≥ 50 即为异常胃食管反流。若24 h pH监测有异常胃食管反

流指标和/或胃镜下有食管炎(reflux esophagitis, RE), 可诊断为GERD。根据精查的诊断符合率来推测筛查中GERD和RE的阳性率。

1.2.4 分组治疗: 将确诊为GERD的53例患者, 随机分为埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)。A组男9例、女8例, 18-75岁, 平均48.9岁; B组男8例、女9例, 19-76岁, 平均49.3岁; C组男9例、女10例, 20-72岁, 平均48.6岁。3组年龄、性别之间均有可比性, 均排除有其他器质性疾病。改变生活方式包括: 抬高枕头、减少脂肪摄入, 避免过饱, 避免浓茶等刺激性食物, 戒烟限酒, 进餐后3 h避免平卧。方法及疗效判定: A组每日晨起空腹口服埃索美拉唑镁肠溶片40 mg; B组口服西米替丁片200 mg, 早晚各1次; C组仅通过改变生活方式治疗。治疗期间停用其他抗酸药物及胃动力药物, 治疗4 wk后进行疗效判定。症状改善标准为GerdQ症状积分减少1分以上。

统计学处理 选用Excel2003软件数据库对实验数据进行整理, 计量资料统计分析采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。实验数据采用SPSS17.0统计软件包对计量资料两组间比较进行统计分析, 先进行正态性分布及方差齐性检验, 若呈正态分布、方差齐, 采用两独立样本 t 检验分析, 计算 t 值, 否则用Kruskal-Wallis秩和检验进行比较计算 χ^2 值($P < 0.05$ 为差异有统计学意义)。应用多因素Logistic回归分析影响胃食管反流症状的因素, 用向前法筛选变量($P < 0.05$ 为差异有统计学意义)。

2 结果

2.1 GERD和RE的患病率 精查后的对照组(GerdQ分值 < 8)30例中有3例患有其他器质性疾病, 其中1例为十二指肠溃疡, 2例为慢性胆囊炎; 观察组(GerdQ分数 ≥ 8)70例中有11例亦有其他器质性疾病, 其中7例为十二指肠溃疡, 4例为胃溃疡, 这些患者的酸反流为症状性反流, 不能诊断为GERD或RE。测算GERD的正确诊断率平均为72.86%, 有反流症状(GerdQ分数 ≥ 8)的468例中, GERD应有 $468 \times 72.86\% = 341$ 例, 占筛查人群2980例的 $(341/2980)11.44\%$, 同样, 可预测RE在本人群中的阳性率为2.92%(表2)。

2.2 胃食管反流症状相关因素的研究 多因素Logistic回归分析显示高脂饮食[优势比(odds Ratio, OR) = 7.964]、饮酒(OR = 3.804)、饮浓茶(OR = 2.758)、腹型肥胖(OR = 2.713)、饱食(OR =

■相关报道

据报道一些因素如性别、年龄、体质量指数、教育程度、吸烟、饮酒、油腻食物、药物使用、幽门螺旋杆菌感染等与GERD发病有关。

■ 创新盘点

经文献检索证实, 在新疆地区尚未见有关维吾尔族成年人胃食管反流病发病率的研究报道。

表 2 精查中GERD和RE的正确诊断率 $n(\%)$

分组	n	胃食管反流病正确 诊断率(GERD)(%)	反流性食管炎正 确诊断率(RE)(%)
对照组(症状 积分分值<8)	30	2(6.67)	1(3.33)
观察组(症状 积分分值 ≥ 8)	70	51(72.86)	13(18.57)

GERD: 胃食管反流病; RE: 反流性食管炎。

2.408)、幽门螺杆菌感染($OR = 0.186$)与症状性反流(GER)存在相关性(表3)。

2.3 分组治疗结果 治疗4 wk后埃索美拉唑组(A组)、西米替丁组(B组)和改变生活方式组(C组)症状改善率分别为88.24%、47.06%、26.32%, 埃索美拉唑组症状改善优于西米替丁组($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

GERD是基于胃或十二指肠内容物反流入食管, 引起不适症状和/或并发症的一种疾病^[4]。在亚洲各国报道的GERD发病率不同, 但通常较低, 可能的原因为低脂肪饮食、体质量指数较低以及可能由于幽门螺杆菌感染引起的酸分泌量减少有关。中国新近1项GERD多中心研究显示中国人群每周烧心、反流的发生率分别为1.83%和4.23%, 烧心和/或反流总发生率为5.16%^[5]。本次调查研究预测乌鲁木齐市维吾尔族人群GERD的患病率为11.44%, RE为4.26%, 从上述预测结果我们可以看出本市GERD患病率较高。维吾尔族的饮食习惯以牛、羊肉、牛奶等高脂、油腻食物为主, 且该民族患者经常进食过饱, 加之油腻食物摄入过多, 二者增加腹压和延迟胃排空时间, 同时脂肪可能增加食管黏膜对酸的敏感性, 其次通过增加下食管括约肌一过性松弛(transient LES relaxation, TLESR)增加反流^[6]; 另维吾尔族居民饮酒者较多, 同时习惯饮用浓茶, 酒精和浓茶能刺激胃酸的大量分泌, 胃容积增大, 促使食管下段括约肌呈一过性松弛, 最终导致GERD和RE的发生^[3]。通过此次调查研究, 我们还发现腹型肥胖亦是GERD发生的危险因素之一, 这可能与肥胖通过增加胃食管压力梯度、增加食管裂孔疝的发生、增加腹内压、增加胆汁和胰酶排泄等有关^[7], 因此在GERD防治方面需要注意饮食、生活的调理。

本研究结果显示幽门螺杆菌感染为GERD

的保护因素, 与多数学者^[8-10]的研究结果相一致, 他们认为幽门螺杆菌感染后通过对胃泌素的调节, 引起食管下括约肌压力的升高从而实现对胃食管反流的保护。另有研究提示胃体幽门螺杆菌影响壁细胞分泌胃酸, 伴随着胃窦部炎症的好转而胃体部炎症的加重泌酸减少, 导致抑酸药物效果的提高^[11]。

本研究结果显示19例GERD患者经过单纯改变生活方式4 wk后, 症状积分减少 >1 的有5例(治疗有效率为26.32%), 提示即使采用药物治疗的患者也应积极改变生活方式, 这样可能会减少药物维持治疗的剂量, 增强治疗效果。西米替丁为H₂受体阻断剂(H₂RA), 能阻止组胺与H₂受体相结合, 减少对壁细胞的刺激作用, 使胃酸的分泌量减少, 该药物初用时抑酸效果较好, 但长期使用可能会出现受体耐受性而抑酸作用降低^[12]。胃酸分泌的最后一个环节是壁细胞上的质子泵(H⁺-K⁺-ATP酶), 埃索美拉唑可以非竞争性不可逆性地抑制壁细胞酸分泌小管上的H⁺-K⁺-ATP酶, 有效地抑制胃酸的分泌, 药效维持时间长, 使反流症状明显改善^[13], 但其唯一缺点是治疗费用明显增高。钾竞争性酸受体阻滞剂(potassium competitive acid blockers, P-CABs)是一种有别于质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)的新型抑酸剂, 与PPI只能抑制激活状态的质子泵相比, 该药物对静止状态质子泵亦有抑制作用, 代表药物为盐酸瑞伐拉赞, 该药物已于2007年经韩国FDA批准上市, 目前尚未进入国内市场。有研究^[14,15]发现该药物与埃索美拉唑相比, 烧心症状缓解率无明显差异, 该药物的疗效有待进一步评估。总之, 我们需积累更多的临床治疗经验, 寻求治疗效果与医疗费用的平衡。

4 参考文献

- 赵迎盼, 唐旭东. 关于难治性胃食管反流病定义的探讨. 中华医学杂志 2011; 47: 3374-3376
- 王闫飞, 吴静, 沈艳辉. 胃食管反流病的流行病学研究进展. 现代预防医学 2010; 37: 4417-4417
- 张军汉, 周黎黎, 杨晓燕, 肖翠兰, 迟雪梅, 原旭化, 张晖. 克拉玛依市区胃食管反流症状流行病学调查及防治. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1621-1624
- 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食管反流病共识意见(2006-10, 三亚). 中华内科杂志 2007; 46: 170-173
- 陈胜良. 亚太地区胃食管反流病的特点. 胃肠病学 2009; 14: 713-715
- 吴欢, 柯美云. 改变不良生活方式和饮食习惯在胃食管反流病治疗中的作用. 胃肠病学 2009; 14: 449-452
- Kaltenbach T, Crockett S, Gerson LB. Are lifestyle measures effective in patients with gastroesopha-

表 3 胃食管反流症状相关因素的多因素Logistic回归分析

因素	系数(B)	标准误(SE)	χ^2	P值	OR	95% CI for OR	
						Lower	Upper
高脂饮食	2.075	0.132	246.396	0.000	7.964	6.146	10.319
饮酒	1.336	0.124	115.857	0.000	3.804	2.982	4.852
饮浓茶	1.014	0.122	68.886	0.000	2.758	2.170	3.504
腹型肥胖	0.998	0.103	94.747	0.000	2.713	2.219	3.316
饱食	0.879	0.122	51.792	0.000	2.408	1.896	3.060
幽门螺杆菌感染	-1.683	0.135	154.432	0.000	0.186	0.143	0.242

■同行评价

本文设计合理, 结果可信, 研究结果对少数民族地区胃食管反流病的防治有一定指导意义。

表 4 不同治疗组症状改善率的比较

分组	n	GerdQ症状积分减少>1	GerdQ症状积分减少≤1	有效率
埃索美拉唑组(A组)	17	15	2	88.24% ^{ab}
西米替丁组(B组)	17	8	9	47.06%
改变生活方式组(C组)	19	5	14	26.32%

^aP<0.05 vs 西米替丁组(B组); ^bP<0.01 vs 改变生活方式组(C组)。

geal reflux disease? An evidence-based approach. *Arch Intern Med* 2006; 166: 965-971 [PMID: 16682569 DOI: 10.1001/archinte.166.9.965]

8 陈吉, 高美丽, 崔宏, 王忠. 胃食管反流病与幽门螺杆菌感染的关系研究. *国际消化病杂志* 2006; 26: 360-361

9 李渊, 周丽雅, 林三仁, 金珠, 崔荣丽, 何平平. 反流性食管炎与幽门螺杆菌感染的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 171-174

10 李渊, 周丽雅, 林三仁, 金珠, 崔荣丽, 王洪源. 反流性食管炎与幽门螺杆菌感染的相关性研究. *中国实用内科杂志* 2009; 9: 833-836

11 Calleja JL, Suarez M, De Tejada AH, Navarro A. Helicobacter pylori infection in patients with erosive esophagitis is associated with rapid heartburn relief and lack of relapse after treatment with pantoprazole. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 432-439 [PMID: 15810621 DOI: 10.1007/s10620-005-2453-8]

12 王河, 汪安江, 朱萱. 胃食管反流病药物治疗进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1711-1719

13 Fass R, Chey WD, Zakko SF, Andhivarothai N, Palmer RN, Perez MC, Atkinson SN. Clinical trial: the effects of the proton pump inhibitor dexlansoprazole MR on daytime and nighttime heartburn in patients with non-erosive reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1261-1272 [PMID: 19392864 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04013.x]

14 Kahrilas PJ, Dent J, Lauritsen K, Malfertheiner P, Denison H, Franzén S, Hasselgren G. A randomized, comparative study of three doses of AZD0865 and esomeprazole for healing of reflux esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1385-1391 [PMID: 17950677 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.08.014]

15 Dent J, Kahrilas PJ, Hatlebakk J, Vakil N, Denison H, Franzén S, Lundborg P. A randomized, comparative trial of a potassium-competitive acid blocker (AZD0865) and esomeprazole for the treatment of patients with nonerosive reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 20-26 [PMID: 18184117 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01544.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



药物性肝损伤临床分析324例

张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红

■背景资料

肝脏是药物代谢的主要场所,也是较容易受损害的靶器官,药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的发病率逐年增加。DILI严重者可致肝功能衰竭,危及生命,是临床医生在执业过程中可能遇到的风险问题,容易引起医患纠纷。本文就DILI的特点进行分析总结。

张平, 樊小春, 李玉红, 原州区人民医院感染科 宁夏回族自治区固原市 756000

柯玉满, 原州区人民医院中医科 宁夏回族自治区固原市 756000

张平, 副主任医师, 主要从事乙型肝炎肝硬化的研究。

作者贡献分布: 此课题由张平设计; 研究过程由张平、柯玉满及樊小春操作完成; 数据分析由张平与樊小春完成; 本论文写作由张平、柯玉满及李玉红完成。

通讯作者: 张平, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市文化街10号, 原州区人民医院感染科。p13007949888@163.com
电话: 0954-2078107

收稿日期: 2013-06-19 修回日期: 2013-07-23

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-11-28

Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases

Ping Zhang, Yu-Man Ke, Xiao-Chun Fan, Yu-Hong Li

Ping Zhang, Xiao-Chun Fan, Yu-Hong Li, Department of Infection, Yuanzhou District People's Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China
Yu-Man Ke, Department of Traditional Chinese Medicine, Yuanzhou District People's Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Zhang, Associate Chief Physician, Department of Infection, Yangzhou District People's Hospital, 10 Wenhua Street, Guyuan 756000, the Ningxia Hui Autonomous Region, China. p13007949888@163.com
Received: 2013-06-19 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To investigate the causes and clinical characteristics of drug-induced liver injury to improve the diagnosis and treatment of this disease.

METHODS: Clinical data for 324 patients with drug-induced liver injury who were treated at our hospital from 2003 to 2012 were retrospectively analyzed. Drug-induced liver injury was assessed using the International Consensus quantitative scoring system. The number of treated cases, drug used, clinical manifestations and treatment outcomes were analyzed.

RESULTS: Many kinds of drugs could induce liver damage. Anti-tubercular drugs (36.11%), Chinese traditional medicine (32.10%), and anti-inflammatory drugs (10.19%) were among the

top three drugs that could induce liver damage. Liver injury was often mild to moderate. Main clinical manifestations were fatigue, anorexia, colored urine, nausea and right upper quadrant discomfort. After the treatment, 99.1% of cases were cured, and the mortality was 0.9%.

CONCLUSION: Anti-tuberculosis drugs and Chinese medicine are main causes of drug-induced liver injury.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Drug; Liver damage; Clinical features

Zhang P, Ke YM, Fan XC, Li YH. Causes and clinical features of drug-induced liver damage: An analysis of 324 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3720-3723
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3720.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3720>

摘要

目的: 探讨药物性肝炎的临床特点, 加深对药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的认识, 提高本病的诊治水平。

方法: 通过对2003-2012年本院药物性肝损伤病例324例进行回顾性研究, 采用急性药物性肝损伤国际共识意见的量化评分系统, 分析诊治病例数、所用药物种类、临床表现和治疗转归。

结果: 引起肝损害药物种类繁多, 排列前3位的是抗结核药物36.11%, 中草药和中成药32.10%, 解热镇痛药10.19%。导致肝损伤以轻度为主, 临床表现主要为乏力纳差尿黄恶心上腹不适等; 治疗后, 99.1%治愈, 病死率0.9%。

结论: 抗结核和中药是导致DILI的主要药物, 胆汁淤积型及混合型药物性肝损伤引起的病理类型较重。临床用抗结核药物、中药时要注意检测肝功能。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■同行评议者

王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科; 刘平, 教授, 主任医师, 南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤内科

关键词: 药物; 肝损伤; 临床特点

核心提示: 药物性肝损伤(drug induced liver injury)不可预测, 但妇女、老人容易发生。导致肝损伤药物中: 抗结核药物占36.11%, 中草药和中成药占32.10%, 解热镇痛药占10.19%。临床表现多为非特异性肝脏疾病的症状。损伤类型以肝细胞型多见。年龄与肝功能恢复速度呈负相关, 即年龄越大, 肝功能恢复速度越慢。

张平, 柯玉满, 樊小春, 李玉红. 药物性肝损伤临床分析324例. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3720-3723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3720.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3720>

0 引言

肝脏是药物代谢的主要场所, 因此是较容易受损害的靶器官之一^[1]。随着临床应用的药物品种越来越多, 导致药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)的发病率也逐年增加^[2]。DILI严重者可致肝功能衰竭, 危及生命, 并容易引起医患纠纷。本研究对2003-01/2012-12在原州区人民医院门诊和住院确诊的DILI患者324例的病因及临床特点进行回顾性分析, 总结其特点, 以期引起临床医生足够重视并为加强这些药物的临床监测提供信息资料。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2003-01/2012-12在原州区人民医院门诊和住院确诊的DILI患者病历资料, 根据药物性肝损伤的诊断标准^[3]对病例进行筛选。入选标准: 根据1989年国际医学科学组织理事会确立的Rousel Ucalf因果关系评估法(Rousel Ucalf causality assessment method, RUCAM)标准^[4,5]选择RUCAM评分 ≥ 3 分的病例资料纳入分析。入选病例共324例, 男128例, 女196例。男女之比1:1.53。肝损伤的类型: 美国食品与药品管理局药物肝毒性指导委员会^[3]分类标准为: (1)肝细胞损伤型: 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) ≥ 3 倍正常值上限且 $R \geq 5$ [$R = \text{ALT超过正常值上限倍数}/\text{碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)超过正常值上限倍数}$]; (2)胆汁淤积型: $ALP \geq 2$ 倍正常值上限且 $R \leq 2$; (3)混合型: $ALT \geq 3$ 倍正常值上限, $ALP \geq 2$ 倍正常值上限, 且 $2 < R < 5$ 。肝损伤的严重指数: 轻度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, 但总胆红素(total bilirubin, TBIL) $< 2.5 \text{ mg/dL}$, 这种变

化为可复性, 并且无凝血功能异常($INR < 1.5$)。又可分为有症状(S)和无症状(A), 症候群包括: 疲乏、恶心、右上腹疼痛、瘙痒、皮疹、黄疸、虚弱、厌食或体质量减轻, 这些症候群被认为是由DILI引起。中度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, 且 $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$ 或虽无高胆红素血症但存在凝血功能异常($INR \geq 1.5$)。重度: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$, 且因DILI而需要住院治疗(或原已住院的患者住院时间延长)。急性肝功能衰竭: 患者血清氨基转移酶或碱性磷酸酶水平升高, $TBIL \geq 2.5 \text{ mg/dL}$, 且至少出现下述情况之一: (1)有肝功能失代偿征象($INR \geq 1.5$, 腹水或肝性脑病); (2)出现认为与DILI事件相关的其他器官功能衰竭。致命: 患者因DILI死亡或需要进行肝移植。

1.2 方法 通过回顾记录DILD患者的年龄、性别、体质量、原发疾病、服药种类、剂量、给药途径、症状出现的时间、临床表现, 实验室检查(肝功能、凝血功能、病原学检查), 药物性肝损伤处理情况及结局, 进行系统总结分析。

统计学处理 采用SPSS12.0软件, 计数资料采用率或构成比表示, 率的比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 用配对资料 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 324例患者年龄4-87岁, 平均年龄 43.4 ± 16.8 岁, 其中 ≥ 65 岁94例, 占29.01%; 体质量 $15-102.5 \text{ kg}$ ($67.0 \text{ kg} \pm 12.4 \text{ kg}$)。有基础肝病的53例(16.35%)。年龄与肝功能恢复速度呈负相关, 即年龄越大, TBIL及ALT的恢复速度越慢($t = 2.473, P < 0.05$)。而年龄与肝损伤类型以及预后没有相关性。性别、基础肝病与肝损伤程度、恢复速度、病程、预后之间均无关系。

2.2 用药途径及肝损伤情况 在统计的药物中, 口服药物致肝损伤的233例, 静脉用药83例, 外用药物8例。各类药物引起的肝功能损伤类型如表1。各类药物引起的肝损伤类型差异有统计学意义($P < 0.05$)。本文引起肝损伤的药物多见于: 抗结核药物117例(36.11%); 中草药和中成药104例(32.10%); 解热镇痛药物33例(10.19%)。

2.3 临床表现 主要的临床表现为纳差、乏力269例(83.00%); 黄疸177例(53.67%); 上腹部不适164例(50.62%); 皮疹88例(27.16%); 瘙痒73例(22.53%); 发热85例(26.53%); 恶心、呕吐、腹

■研究前沿

药物诱发的肝细胞性黄疸易发生急性肝功能衰竭, 病死率约为10%-50%, 称为Hy'S定律。美国FDA规定以Hy'S定律作为药物肝毒性的警戒线, 作为新药可否上市应用前扩大观察病例的依据。药物导致的肝细胞型黄疸具有立即停药的指征。

■相关报道

世界卫生组织统计, DILI已经成为全球的第5位死亡原因。DILI的诊断是以间接证据为基础, 依靠诊断评分系统, 其诊断缺乏“金标准”, 因此, 在临床上, 不同的医务工作者对DILI的认识有所不同。

■创新盘点

抗结核药物导致DILI,重症肝损伤病例数较多,是居第2位的肝毒性药物。是加保肝药还是减量,或者停药,这需要权衡利弊,慎之又慎。同时提高公众使用中草药的安全意识的必要性。

表 1 引起药物性肝损伤的药物分类

药物类型	n	百分比(%)
抗结核药	117	36.11
中草药	76	23.46
中成药	28	8.64
抗肿瘤药	8	2.47
调脂药	11	3.39
抗寄生虫药	14	4.32
解热镇痛药	33	10.19
抗变态反应药	5	1.54
抗甲状腺药	17	5.25
激素类药	15	4.63

表 2 肝损伤的临床分型及其出现频率

临床分型	n	百分比(%)
肝细胞型	173	53.4
胆汁淤积型	88	27.2
混合型	63	19.4

胀等169例(52.16%);无症状36例(11.11%)。肝损伤类型分布如表2:肝细胞型53.4%,胆汁淤积型27.2%,混合型19.4%。肝损伤严重指数及其出现频率(表3):轻度56.2%,中度异常29.3%,重度异常9.9%,急性肝功能衰竭3.7%,致命0.9%。TBil升高的有182例(65.9%)。药物性肝损伤合并肾功能异常的占9.83%。

2.4 治疗与转归 324例患者一经确诊,在病情允许的情况下立即停用有关药物或可疑损伤肝脏药物,结核病应权衡利弊调整用药。对无黄疸,ALT≤200 U/L停药后1 wk肝功能均可恢复,对出现黄疸,ALT>200 U/L,静脉给予维生素C、甘草酸二铵、还原性谷胱甘肽等,对总胆红素均值为276 μmol/L±95.34 μmol/L加用促肝细胞生长素,如没有禁忌症可短期给予甲基强的松龙治疗。324例中治愈213例(65.74%),好转108例(33.33%),死亡3例(0.9%)。死亡病例TBIL>400 μmol/L,且出现酶胆分离、出血、腹水、肝性脑病等并发症。大多患者平均4 wk左右肝功能恢复正常。胆汁淤积型患者肝功能恢复较慢。

3 讨论

药物是一把双刃剑,如果应用不合理就会对机体造成损伤。药物引起肝损伤频率较高,仅次于病原体,是引起肝损伤的第2大原因。研究发现^[6],成人中氨基转移酶升高有10%-50%是由药物引

表 3 肝损伤严重指数及其出现频率

临床分度	n	百分比(%)
轻度	182	56.2
中度异常	95	29.3
重度异常	32	9.9
急性肝功能衰竭	12	3.7
致命	3	0.9

起;占有黄疸住院病例的2%-5%,药物性肝衰占有急性肝衰患者的10%-52%^[7]。已报道可引起各种急慢性肝脏损害的药物达1000余种^[8]。世界卫生组织统计,药物性肝损伤已经成为全球的第5位死亡原因^[9]。药物性肝损伤发病机制较为复杂,机制尚未完全阐明,目前认为与细胞色素P450酶(CYP450)代谢激活、细胞内钙稳态破坏、线粒体损伤、细胞凋亡、自身免疫激活、胆汁淤积和胆小管损伤等机制有关^[10]。

本研究结果表明,药物性肝损伤中抗结核药物居于首位,频率为36.11%。究其原因,其一是随着流动人口和艾滋病感染率增加,结核病例逐年增加,再加上宁夏结核病发病率本来较高。另外,在标准抗结核化疗方案中,利福平、异烟肼、乙胺丁醇是不可替代一线药。随着结核病化疗疗程的延长,耐药结核病的增多,临床以多组药物联合应用,故抗痨药物引起的肝损伤病例也就会随之升高。中草药和中成药致肝损伤占32.10%;中草药单味如:雷公藤、何首乌、蜈蚣粉、苍耳子、野百合、佩兰、紫草、菊三七、泽兰等。有些本来是治疗肝病药物,如苦参、山豆根等也可导致肝损伤。中成药如克银丸、更年安、天麻杜仲丸、乳癖消、壮骨关节丸、昆明山海棠片、青黛丸等。汤剂较为混乱,不确定因素较多,以偏方、验方更易致药物性肝损伤。

全国多中心对1142例急性药物性肝损伤病例进行分析,中草药引起的占21.5%,居第2位^[11]。因此,我们也要警惕中药导致的药物性肝损伤,澄清中药无不良反应谬论,临床要掌握好用药剂量、配伍,并注意监测肝功能变化。解热镇痛药致药物性肝损伤比例亦不容忽视(10.19%)。关于药物性肝损伤文章较多,因地域不同、医院级别不同、报告致药物性肝损伤的药物谱不尽相同。药物性肝损伤的临床表现多为非特异性肝脏疾病的症状。特征性表现如发热、出疹、嗜酸性粒细胞增多^[12]等出现几率较少。妇女、老

■应用要点

DILI的预防是关键,临床医师对所用药物要熟知所用药物的性能,注意配伍与毒性关系,剂量以适度为度,切忌大剂量长疗程,及时、严密观察其不良反应。详细询问病史,特别是肝脏病史和过敏史或过敏体质,对有DILI病史的患者,用药应慎重。要认识到中草药的不良反应,在其长期应用中定期复查血象和肝功。并且和患者做好沟通,明确告知药物可能不良反应,努力减少医源性肝损伤。

人容易发生药物性肝损伤^[13], 老年人易发生药物性肝损伤, 其原因可能有: 肝脏肾脏功能减退, 对药物的代谢及排泄能力下降, 肾小球滤过作用减退导致药物的血药浓度增高等。轻症病例停用可疑损伤肝脏药物1 wk, 肝功能多可自行恢复, 较重病例给以甘草酸制剂、还原性谷胱甘肽及短期给予甲基强的松龙治疗可取的满意疗效。本研究病死率明显低于文献报道^[14]。而黄疸水平和预后有相关性^[15]和文献报道一致。

总之, 我们对药物性肝损伤应予以高度重视, 要熟知所用药物的性能, 注意配伍与毒性关系, 剂量以适为度, 切忌大剂量长疗程, 及时、严密观察其不良反应。并且和患者做好沟通, 明确告知药物可能不良反应。努力减少医源性肝损伤。

4 参考文献

- 1 Buratti S, Lavine JE. Drugs and the liver: advances in metabolism, toxicity, and therapeutics. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14: 601-607 [PMID: 12352255 DOI: 10.1097/00008480-200210000-00007]
- 2 陈昶铭, 常冰, 张岱, 向国卿, 贺晓虎, 王炳元. 沈阳地区药物性肝损伤病因和损伤类型. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2525-2528
- 3 中华医学会消化病学分会肝胆疾病协作组. 急性药物性肝损伤诊治建议(草案). *中华消化杂志* 2007; 11: 765-767
- 4 Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke RA, Avigan M, Kaplowitz N, Bjornsson E, Daly AK. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 806-815 [PMID: 21544079 DOI: 10.1038/clpt.2011.58]
- 5 Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs--I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993; 46: 1323-1330 [PMID: 8229110 DOI: 10.1016/0895-4356(93)90101-6]
- 6 杨安卿, 胡颖. 药物性肝病的诊断和治疗. *中华现代内科学杂志* 2006; 3: 658-660
- 7 Sierra F, Torres D. A concise and structured review of drug-induced toxic hepatic disease. *Ann Hepatol* 2004; 3: 18-25 [PMID: 15118575]
- 8 Ikeda T. [Drug-induced liver injury]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2006; 127: 454-459 [PMID: 16880695 DOI: 10.1254/fpj.127.454]
- 9 王海永, 王伟, 杜振宗, 李安桂, 宋剑非. 心脏外科围手术期急性药物性肝损伤12例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1350-1353
- 10 陈东风, 孙文静, 熊吉. 药物性肝损伤的诊断与治疗. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 170-172
- 11 中华医学会消化病学分会肝胆疾病协作组. 全国多中心急性药物性肝损伤住院病例调研分析. *中华消化杂志* 2007; 27: 439-442
- 12 Wysowski DK, Fourcroy JL. Flutamide hepatotoxicity. *J Urol* 1996; 155: 209-212 [PMID: 7490837 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)66596-0]
- 13 林静, 王亚丽, 王海燕. 老年人急性药物性肝病临床分析30例. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2059-2062
- 14 Andrade RJ, Lucena MI, Fernández MC, Pelaez G, Pachkoria K, García-Ruiz E, García-Muñoz B, González-Grande R, Pizarro A, Durán JA, Jiménez M, Rodrigo L, Romero-Gomez M, Navarro JM, Planas R, Costa J, Borrás A, Soler A, Salmerón J, Martín-Vivaldi R. Drug-induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology* 2005; 129: 512-521 [PMID: 16083708]
- 15 Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995; 333: 1118-1127 [PMID: 7565951 DOI: 10.1056/NEJM199510263331706]

■同行评价

本文研究的病例数较多, 数据可信, 对当地临床医师有一定的参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化($\geq F2$)的Meta分析

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰

■背景资料

在我国, 慢性病毒性肝炎是导致肝纤维化和肝硬化的最重要原因, 尤其以慢性乙型肝炎为主, 肝纤维化分级评估是决定是否行抗病毒治疗、是否需密切监测肝硬化相关并发症的重要参考。因此临床上需要定期监测肝纤维化情况以评估病情和决定治疗方案。

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 童依丽, 于晓峰, 复旦大学附属华东医院消化内科 上海市 200040

罗子华, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病诊疗方面和大肠癌的基础与临床研究。

作者贡献分布: 课题构思、文章修改及审阅由于晓峰完成; 资料收集、筛选及评价由罗子华、邹健及宓林完成; 统计学分析由刘燕与童依丽完成; 文章书写由罗子华完成。

通讯作者: 于晓峰, 教授, 主任医师, 200040, 上海市静安区延安西路221号, 复旦大学附属华东医院消化内科。

yuxiaofeng252@163.com

电话: 021-62483180 传真: 021-62483180

收稿日期: 2013-08-20 修回日期: 2013-09-18

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

Evaluation of hepatic fibrosis stage ($\geq F2$) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A Meta-analysis

Zi-Hua Luo, Jian Zou, Lin Mi, Yan Liu, Yi-Li Tong, Xiao-Feng Yu

Zi-Hua Luo, Jian Zou, Lin Mi, Yan Liu, Yi-Li Tong, Xiao-Feng Yu, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated To Fudan University, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Xiao-Feng Yu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated To Fudan University, 221 West Yan'an Road, Shanghai 200040, China. yuxiaofeng252@163.com

Received: 2013-08-20 Revised: 2013-09-18

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To evaluate the value of fibroscan (FS) in hepatic fibrosis stage assessment in patients with chronic viral hepatitis, and to examine whether its accuracy is affected by etiology.

METHODS: English and Chinese articles related to assessment of hepatic fibrosis stage by fibroscan in Wanfang, Chinese Journal Full-Text Database (CJFD), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), PubMed, Cochrane library and EMBASE database were strictly screened and evaluated. Data of enrolled articles were analyzed using Meta-disc1.4 and Stata12.0 software.

RESULTS: A total of 28 English and Chinese articles were included. The pooled sensitivity, specificity, diagnostic odds ratio and the area

under curve (AUC) of summary receiver operating characteristic (SROC) curve for significant fibrosis ($F \geq 2$) and cirrhosis ($F = 4$) in patients with chronic viral hepatitis were 0.72 (0.70-0.73), 0.85 (0.83-0.87), 18.51 (13.28-25.80), 0.88 and 0.86 (0.84-0.88), 0.86 (0.85-0.87), 49.14 (30.53-79.09) and 0.94, respectively. There was no significant difference among the results of meta-analysis according to etiology.

CONCLUSION: Fibroscan has a high diagnostic accuracy for evaluating hepatic fibrosis stage, especially in patients with cirrhosis. The diagnostic accuracy of fibroscan is not affected by etiology.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Fibroscan; Hepatic fibrosis; Meta-analysis; Chronic hepatitis C; Chronic hepatitis B

Luo ZH, Zou J, Mi L, Liu Y, Tong YL, Yu XF. Evaluation of hepatic fibrosis stage ($\geq F2$) by fibroscan in patients with chronic viral hepatitis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3724-3735 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3724>

摘要

目的: 应用诊断试验Meta分析方法评价瞬时弹性成像技术(fibroscan, FS)诊断慢性病毒性肝炎肝纤维化的准确性以及研究其准确性是否受病因影响。

方法: 检索万方数据-学术期刊全文库、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)、PubMed(Medline)、Cochrane library、EMBASE数据库中有关FS评价慢性病毒性肝炎肝纤维化的中英文文献, 进行严格筛选和评价, 应用Meta-disc1.4和Stata12.0软件进行统计学分析。

结果: 共纳入28篇中英文文献。FS诊断慢性病毒性肝炎明显肝纤维化($\geq F2$)和肝硬化

■同行评议者
吴君, 主任医师,
贵阳医学院附属
医院感染科

($F = 4$)的合并敏感度、合并特异度、合并诊断比值比、综合受试者工作特征(summary receiver operating characteristic, SROC)曲线下面积分别为0.72(0.70-0.73)、0.85(0.83-0.87)、18.51(13.28-25.80)、0.88和0.86(0.84-0.88)、0.86(0.85-0.87)、49.14(30.53-79.09)、0.94。Meta分析对所有慢性病毒性肝炎所得的结果,与按慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)或慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)病因分类后Meta分析所得的结果相比,未见明显差异。

结论: FS诊断肝纤维化分级的准确性良好,尤其对诊断肝硬化。不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Fibroscan; 肝纤维化; Meta分析; 慢性丙型肝炎; 慢性乙型肝炎

核心提示: Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性良好,尤其对诊断肝硬化。不论是慢性丙型肝炎或慢性乙型肝炎, Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别。

罗子华, 邹健, 宓林, 刘燕, 董依丽, 于晓峰. Fibroscan评价慢性病毒性肝炎肝纤维化($\geq F2$)的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3724-3735 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3724>

0 引言

迄今为止, 肝穿刺活检(liver biopsy, LB)仍被视为诊断肝纤维化分级的“金标准”, 尽管其属于创伤性检查 and 存在发生并发症的风险。肝活检常见的并发症有迷走神经反射、肝区疼痛、肝包膜下出血等, 甚至可以导致死亡, 据报道死亡率在1/(1-1.2)万左右^[1]。另外, 不同病理医师的诊断主观上存在误差, 穿刺部位的局限也可引起抽样误差, Colloredo等^[2]研究还发现肝穿刺活检的样本量越小对肝纤维化程度低估的可能性越大, 这些都是影响病理诊断结果的重要因素。因此临床上迫切需要能够替代肝穿刺活检的无创性检查。

瞬时弹性成像技术(fibroscan, FS)是2003年左右出现的应用超声波技术测定肝组织硬度的无创性检查^[3], 根据肝脏组织对低频超声震动波反射回来的弹性数值, 来评估肝脏的硬度, 单位以千帕(kPa)表示; 弹性数值越大, 表示肝组织质

地越硬, 纤维化程度越严重。众多研究证实FS值与肝纤维化病理分级密切相关, 同时亦有研究发现FS值受病因、肝脏炎症程度、肝酶水平、肝脏脂肪变程度等因素的影响, 但各研究的纳入病例数、患者纳入标准、患者基本特征不完全一致, 得出的诊断界值也参差不齐, 因此, 迫切需要检验FS诊断肝纤维化分级的准确性。

在我国, 罹患肝病者多为慢性病毒性肝炎, 尤以乙型肝炎为主。随着时间推移, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)肝纤维化程度逐渐加重, 伴随肝脏结构和血流动力学改变, 最终导致肝硬化和相关并发症的发生。而肝纤维化分级的评估是临床评价病情和决定治疗策略的重要依据, 因此需要无创性检查实时监测和评价病情^[4,5]。

本文的主要目的是应用诊断性Meta分析方法研究FS诊断肝纤维化分级的准确性以及研究FS的准确性是否受病因的影响: (1)Meta分析FS诊断CHC肝纤维化分级的准确性; (2)Meta分析FS诊断CHB肝纤维化分级的准确性; (3)对所有慢性病毒性肝炎者, 研究FS诊断肝纤维化分级的准确性; (4)比较各中心得出的肝纤维化诊断界值, 供临床工作者参考使用。

1 材料和方法

1.1 材料 文献检索: 通过计算机检索2002-01/2013-05期间发表的相关文献, 中文数据库包括万方数据-学术期刊全文库、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM), 外文数据库包括PubMed(Medline)、Cochrane library、EMBASE, 主要检索词为fibroscan、transient elastography、瞬时弹性成像、瞬时弹性扫描, 再通过chronic hepatitis B、chronic hepatitis C、cirrhosis、fibrosis等检索词进一步筛选。纳入的文献需符合以下标准: (1)中文或英文原始文献; (2)研究对象为CHB和/或CHC者, 或为研究对象亚组中的这类患者; (3)以LB为金标准, 研究FS诊断肝纤维化分级的准确性; (4)有肝组织病理学诊断结果, 并采用METAVIR分级法^[6]将肝纤维化分为F0-F4期, F0: 无纤维化; F1: 汇管区纤维化但无纤维间隔; F2: 汇管区纤维化伴少量间隔; F3: 间隔纤维化; F4: 早期肝硬化, 其中 $F \geq 2$ 定义为明显肝纤维化。若文献采用其他肝纤维化分级法, 其分级标准必

■研究前沿

目前肝穿刺活检仍被视为诊断肝纤维化分级的“金标准”, 但其属于创伤性检查 and 存在发生并发症的风险, 不能为广大患者接受。Fibroscan可以无创性评估肝纤维化分级, 因其简易的操作性、稳定的重复性和可靠的准确性而得到不断推广使用。

■相关报道

肝脏疾病的病因多种,慢性肝炎长期发展均导致肝纤维化和肝硬化。病因不同,发生肝纤维化的时间、肝脏的病理学特征、肝脏的硬度不完全相同,因此,Fibroscan的诊断界值和诊断准确性不完全相同。Fibroscan在诊断慢性酒精性肝病、慢性非酒精性脂肪性肝病、原发性胆汁性肝硬化等疾病的研究均有报道。

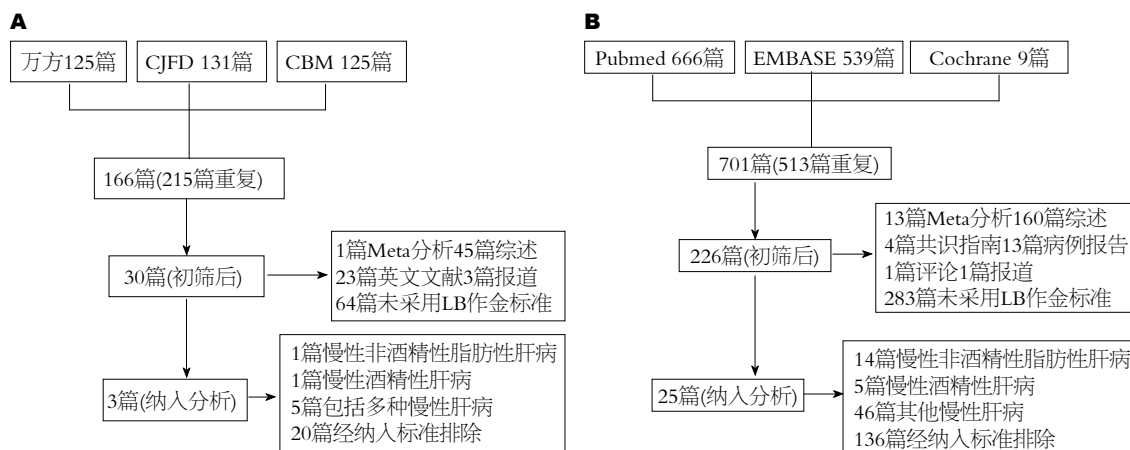


图1 文献筛检流程图. A: 中文数据库; B: 外文数据库.

须与METAVIR分级类似;(5)研究需采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线和受试者工作特征曲线下面积(area under the ROC, AUROC)评价FS诊断肝纤维化分级的准确性,最佳诊断界值为敏感度与特异度之和最大的点。排除标准:(1)重复发表的文献;(2)若纳入文献均符合以上标准,但纳入的患者无法除外存在重复,取纳入的患者总数较大者;(3)无法提取文献数据获得四格表资料或无法获取全文者;(4)文献中的病例数太少而对结果产生严重偏倚;(5)研究对象中合并HIV感染、HDV感染、自身免疫性肝炎或酒精性肝炎等肝脏疾病。

1.2 方法

1.2.1 资料提取: 根据上述纳入和排除标准,提取相关的临床和统计学资料,包括作者、发表年份、国家、病因、纳入分析数、男性人数、FS与LB间隔、平均年龄、平均体质量指数(body mass index, BMI)、LB样本描述、F2和F4界值、F2-4/F4例数,以及统计分析需要的各项参数,包括真阳性数、真阴性数、假阳性数、假阴性数、敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等。

1.2.2 文献质量评价: 根据诊断性试验质量评价量表(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)^[7,8],对纳入文献严格按各条目要求以“是”、“否”、“不清楚”进行严格的评价,并规定“是”为1分,“否”和“不清楚”为0分,总分低于10分的文献排除。

统计学处理 提取纳入文献的数据,整理成四格表形式。诊断性试验中异质性是由阈值效应和非阈值效应引起的,通过计算灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数检验

其阈值效应,若存在阈值效应,则不合并灵敏度、特异度和诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR);通过计算DOR的 I^2 值检验非阈值效应, I^2 值在0%-100%之间,当 $I^2 = 0\%$ 时研究间无异质性,数值越大,异质性就越大。 $I^2 = 25\%$ 时,表明存在轻度异质性; $I^2 = 50\%$ 时,表明存在中度异质性; $I^2 = 75\%$ 时,表明存在高度异质性。根据Cochrane手册, $I^2 > 50\%$ 时则认为研究间存在异质性。如果存在异质性,选用随机效应模型,否则采用固定效应模型。此外,采用漏斗图法直观评估偏倚情况。FS诊断肝纤维化分级的准确性通过以下指标评估:(1)运用综合受试者工作特性(summary receiver operating characteristic, SROC)曲线分析法,绘制出SROC曲线,并计算曲线下面积(area under curve, AUC);(2)计算合并DOR、合并敏感度、合并特异度及其95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)。以上指标均采用Meta-disc1.4和Stata12.0软件分析。

2 结果

2.1 文献筛检 检索中文数据库和外文数据库,采用上述检索策略,严格按照纳入标准和排除标准筛检,最后共28篇文献纳入Meta分析(图1)。

2.2 纳入文献的特点及质量评价 纳入的28篇文献中,来自法国的研究3篇,韩国的研究6篇,罗马尼亚的研究4篇,日本的研究3篇,中国的研究5篇,意大利的研究4篇,来自西班牙、印度尼西亚和全球多中心的研究各1篇。其中15篇文献研究对象包含CHC,病例数为2796例;12篇文献研究对象包含CHB,病例数为1713例;4篇文献研究对象为CHC和CHB,病例数为645例。

筛选出的文献均满足纳入标准并经过严格

表 1 纳入文献基本特征

病因	作者	发表时间(国家)	纳入时间	纳入分析 数(男性)	病理评分标准	FS与LB间隔	年龄(岁)	BMI水平 (kg/m ²)	ALT水平(U/L)	肝穿活检样本描述	QUAD- AS评分
CHC	Zio ^[9]	2005(法国)	2002-11/2003-09	251(155)	METAVIR	6 mo	47.5 ± 13.0	23.9 ± 3.4	2.0 ± 2.0 × ULN	长度18.0 mm(中位数)	11
CHC	Cast é ra ^[10]	2005(法国)	2003-06/2004-06	183(104)	METAVIR	1 d	51.0 ± 12.0	25.0 ± 4.0	2.2 ± 1.9 × ULN	长度17.0 mm(中位数)	12
CHC	Colletta ^[11]	2005(意大利)	1995-11/1998-03	40(22)	METAVIR	6 mo(中位数)	44(27-66)	21(18-26)	38(23-42)	长度20 ± 3 mm; 汇管区7个(中位数)	12
CHC	Lupsor ^[12]	2008(罗马尼亚)	2007-05/2008-03	324(115)	METAVIR	1 d	48.4 ± 10.9	26.5 ± 4.7	89.0 ± 58.0	长度平均11.4 mm; 汇管区平均11.6个	12
CHC	Masuzaki ^[13]	2008(日本)	2004-11/2007-04	386(227)	N ^与 METAVIR ^{类同}	14 d	68.2 ± 9.5	23(14-34)	47(6-506)	长度16(15-17)mm; 96.2%样本 ≥ 5个汇管区	12
CHC	Sporea ^[14]	2008(罗马尼亚)	2007-06/2008-06	191(61)	METAVIR	N	49.8 ± 11.0	N	N	样本要求长度至少20 mm和包括8个汇管区	10
CHC	Arena ^[15]	2008(西班牙)	2006-09/2007-07	150(93)	METAVIR	1 d	原文中分亚组描述	原文中分亚组描述	原文中分亚组描述	样本要求长度至少25 mm和包括11.0个汇管区	12
CHC	Lupsor ^[16]	2009(罗马尼亚)	2008-10/2008-12	112(44)	METAVIR	6 mo	49.0 ± 12.3	26.1 ± 4.0	80.2 ± 51.4	长度平均11.0 mm; 汇管区平均11.0个	11
CHC	Ichino ^[17]	2010(日本)	2004-07/2009-02	165(92)	METAVIR	7 d	53.2 ± 12.6	N	72.4 ± 54.9	N	11
CHC	Rizzo ^[18]	2011(意大利)	2008-11/2009-10	139(83)	METAVIR	3 mo(中位数)	55.0 ± 12.0	26.0 ± 3.0	77.2 ± 33.0	样本要求长度至少15 mm和包括10个汇管区	13
CHC	Patel ^[19]	2011(全球多中心)	2006-11/2008-10	214(105)	METAVIR	N	45.7 ± 11.7	25.1 ± 4.2	45.8%患者 > 1.5 × ULN	长度15.8 mm ± 8.2 mm; 汇管区要求至少6个	11
CHC	Cho ^[20]	2011(韩国)	2006-09/2009-08	86(40)	Batts and Ludwig	1 d	51.7 ± 10.9	24.5 ± 4.2	73.6 ± 72.8	长度34.7 mm ± 11.2 mm	12
CHC	Kim ^[21]	2011(韩国)	2005-06/2009-07	91(44)	Batts and Ludwig	1 d	47.9 ± 11.6	22.9 ± 2.9	40.2 ± 20.9	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	13
CHC	Ferraioli ^[22]	2013(意大利)	2009-06/2012-02	195(139)	METAVIR	1 d	45.3(中位数)	25.3(中位数)	70.0(中位数)	长度27.0 mm ± 8.0 mm	12
CHC	Bosselut ^[23]	2013(法国)	2007-11/2008-07	269(165)	METAVIR	2 mo	50.2 ± 11.2	24.4 ± 3.7	N	长度26.3 mm ± 8.3 mm; 汇管区21.4个 ± 8.2个	12
CHB	Chan ^[24]	2009(中国)	2006-07/2008-03	161(122)	METAVIR	28 d	45 ± 11	24 ± 4	93 ± 78	长度19 mm ± 3 mm; 汇管区10个 ± 5个	12
CHB	Kim ^[25]	2009(韩国)	2005-03/2006-11	91(73)	METAVIR	1 d	40 ± 13	23.8 ± 4.6	46 ± 24	样本要求长度至少10 mm和包括10个汇管区	13
CHB	Lesmana ^[26]	2011(印度尼西亚)	2008-10/2010-04	117(63)	METAVIR	N	40.6 ± 11.0	23.3 ± 3.5	47.7 ± 37.0	样本要求长度至少15 mm和包括5个汇管区	11

■ 创新盘点

通过诊断性Meta分析方法研究Fibroscan诊断肝纤维化分级的准确性,并且进一步的研究发现Fibroscan的准确性在慢性丙型肝炎或慢性乙型肝炎无明显差别。

■应用要点

Fibroscan测量肝组织硬度,具有无创性、简易的操作性、稳定的重复性和可靠的准确性,简便且有效地监测肝纤维化情况以评估病情和决定治疗方案。

CHB	Viganò等 ^[27]	2011(意大利)	2007-01/2008-07	125(97)	METAVIR	N	47(21-67)	36%患者>25	68(19-855)	长度27 mm(中位数);汇管区12个(中位数)	12
CHB	Ogawa等 ^[28]	2011(日本)	N	44(29)	METAVIR	1 d	47.0 ± 13.9	N	50.4 ± 29.0	长度18 mm(中位数)	12
CHB	Zhu等 ^[29]	2011(中国)	2009-03/2010-04	175(137)	METAVIR	1 d	36.5 ± 9.4	N	40.1 ± 18.6	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	13
CHB	Cho等 ^[20]	2011(韩国)	2006-09/2009-08	121(81)	Batts and Ludwig	1 d	39.1 ± 12.8	23.9 ± 3.0	167.0 ± 197.9	长度34.5 mm ± 11.5 mm	12
CHB	纪冬等 ^[30]	2011(中国)	2010-01/2010-12	313(215)	中国指南	1 d	35.6 ± 11.2	N	原文中分亚组描述	长度平均20 mm	10
CHB	张旭等 ^[31]	2011(中国)	2010-01/2010-06	88(60)	中国指南	1 d	34.9 ± 11.6	24.2 ± 5.0	N	样本要求长度至少15 mm和包括6个汇管区	11
CHB	Kim等 ^[32]	2012(韩国)	2010-06/2011-11	170(102)	Batts and Ludwig	1 d	45.3 ± 15.1	23.4 ± 2.8	62.9 ± 26.1	长度21.3 mm ± 0.7 mm	13
CHB	Kim等 ^[33]	2012(韩国)	2008-07/2010-06	194(117)	Batts and Ludwig	1 d	46.7 ± 14.7	23.4 ± 2.8	58.4 ± 27.1	长度21.3 mm ± 0.7 mm	13
CHB	李建志等 ^[34]	2012(中国)	2010-02/2011-06	114(79)	中国指南	N	37.4 ± 10.2	24.3 ± 3.3	60.9 ± 64.6	N	10
CHC CHB	Sporea等 ^[35]	2010(罗马尼亚)	N	71(41)	METAVIR	N	50.7 ± 12.9	N	N	样本要求长度至少20 mm	10
CHC CHB	Lee等 ^[36]	2010(韩国)	2005-10/2007-07	121(89)	METAVIR	1 d	43.1 ± 11.9	23.6 ± 2.9	156.9 ± 211.2	样本要求长度至少10 mm和包括7个汇管区	11
CHC CHB	Cho等 ^[20]	2011(韩国)	2006-09/2009-08	207(121)	Batts and Ludwig	1 d	44.3 ± 13.5	24.1 ± 3.5	128.2 ± 164.7	长度34.7 mm ± 11.3 mm	12
CHC CHB	Kim等 ^[22]	2013(意大利)	2009-06/2012-02	246(171)	METAVIR	1 d	44.7 ± 11.8	25.2 ± 3.9	65(中位数)	长度27 mm ± 8 mm	12

数据以(mean ± SD或中位数[数值范围])表示; N: 原文献未提供; 患者纳入在FS问世前, 长期随访后行LB和FS; ULN: 正常范围上限。

的QUADAS评分, 总体而言, 来自欧美国家的研究多以CHC为研究对象, 来自亚洲国家的研究多以CHB为研究对象, 早期的研究对患者的纳入条件较宽泛, 随后的研究纳入标准逐渐细化, 对患者的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、总胆红素(total bilirubin, TB)水平、BMI水平等指标再进行分层比较, 但限于各中心的研究对指标的分层无统一标准, 难以设定更严格的条件进行Meta分析, 因此本文的患者纳入标准未对ALT、TB等指标的水平进一步限制, 但排除文献中研究对象有急性病毒性肝炎或急性肝功能衰竭者。经初筛后的文献, 多因未能提取完整的四格表数据、研究对象中合并慢性非病毒性肝炎、FS与LB的间隔时间过长、来自同一中心的研究不能除外研究对象重复等原因而在进一步筛选中排除。表1列出了纳入文献的基本特征, 男女比例无明显差异, 各研究ALT水平波动范围较大, 但均未达到急性肝功能衰竭的程度, FS与LB多在同一天内完成, 但部分研究未提及时间间隔。此外, 大部分文献对肝穿刺活检的样本有简要的描述, 但多数研究未提及病理诊断上存在争议的样本情况。

2.3 统计分析结果

2.3.1 FS诊断CHC肝纤维化分级的Meta分析: 15篇文献研究对象包含CHC, 其中14篇文献评价了FS诊断CHC明显肝纤维化($F \geq 2$)的准确性(表2), 诊断界值在6.2-10.1 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.037, $P = 0.899$, 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 I^2 值为57.4, 表明存在较大的异质性, 同

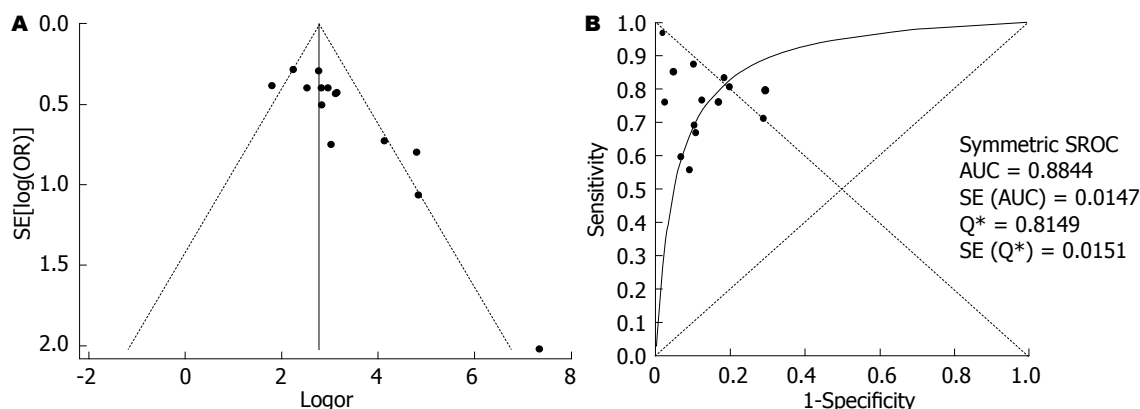


图2 FS诊断CHC明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

■同行评价

本文应用Meta分析方法对近年来国内外发表“Fibroscan诊断慢性病毒性肝炎肝纤维化($\geq F2$)的准确性”的相关文献进行评价, 选题热门, 分析结果有一定的学术价值和临床指导意义。

表2 FS诊断CHC明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2-4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Ziol等 ^[9]	2005	163/251	8.8	56	91	88	56	N
Castera等 ^[10]	2005	136/183	7.1	67	89	95	48	0.83 (0.76-0.88)
Cast é ra等 ^[11]	2005	14/40	8.7	100	100	100	100	N
Lupsor等 ^[12]	2008	210/324	7.4	76	84	90	65	0.86(0.82-0.90)
Sporea等 ^[14]	2008	161/191	6.8	60	93	98	30	0.77
Arena等 ^[15]	2008	84/150	7.8	83	82	83	79	0.91(0.87-0.95)
Lupsor等 ^[16]	2009	68/112	8.1	85	95	97	80	0.96(0.91-0.99)
Ichino等 ^[17]	2010	99/165	7.1	81	80	86	74	0.88(0.83-0.93)
Rizzo等 ^[18]	2011	87/139	6.5	71	71	82	56	0.78(0.70-0.85)
Patel等 ^[19]	2011	43/214	10.1	77	88	62	94	0.88(0.82-0.93)
Cho等 ^[20]	2011	56/86	7.4	88	90	94	79	0.94(0.86-0.98)
Kim等 ^[21]	2011	50/91	6.2	76	98	97	80	0.91(0.84-0.97)
Ferraioli等 ^[22]	2013	97/195	6.9	69	90	87	75	0.86(0.80-0.90)
Bosselut等 ^[23]	2013	129/269	7.1	80	71	72	79	0.83(0.78-0.87)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图2), 其值分别为19.38(13.10-28.67)、0.88, 合并敏感度和合并特异度分别为0.72(0.70-0.75)、0.85(0.83-0.87)。

12篇文献评价了FS诊断CHC肝硬化($F = 4$)的准确性(表3), 诊断界值在9.3-15.9 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.011, $P = 0.974$, 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 I^2 值为72.1, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图3), 其值分别为59.95(31.05-115.76)、0.95, 合并敏感度和合并特异度分别为0.85(0.81-0.87)、0.89(0.87-0.90)。

2.3.2 FS诊断CHB肝纤维化分级的Meta分析: 12

篇文献研究对象包含CHB, 其中9篇文献评价了FS诊断CHB明显肝纤维化($F \geq 2$)的准确性(表4), 诊断界值在5.9-9.3 kPa之间。灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.250, $P = 0.516$, 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 I^2 值为73.2, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图4), 其值分别为19.84(9.35-42.09)、0.89, 合并敏感度和合并特异度分别为0.70(0.67-0.73)、0.87(0.83-0.90)。

10篇文献评价了FS诊断CHB肝硬化($F = 4$)的准确性(表5), 诊断界值在9-15.4 kPa之间; 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.091, $P = 0.803$, 表明尚不能认为存在阈值效应。DOR的 I^2 值为53.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用

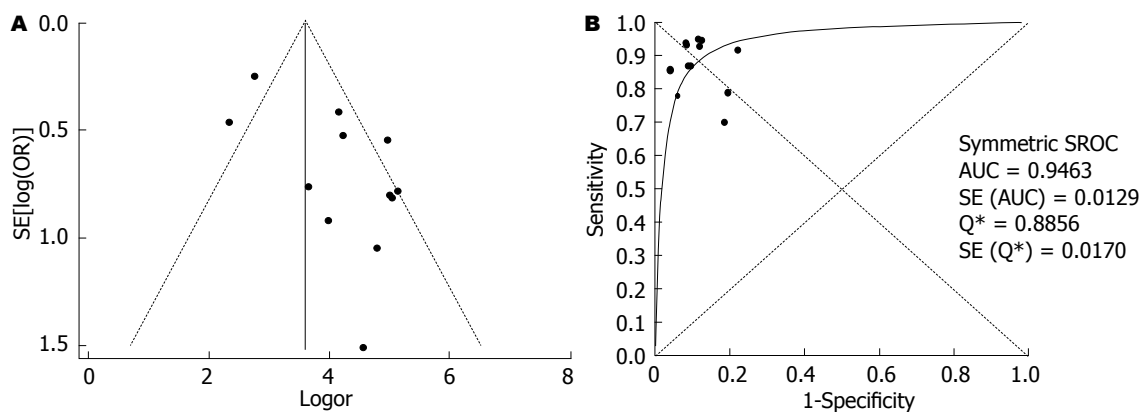


图 3 FS诊断CHC肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

表 3 FS诊断CHC肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值kPa	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Ziol等 ^[9]	2005	49/251	14.6	86	96	78	97	N
Cast é ra等 ^[10]	2005	46/183	12.5	87	91	77	95	0.95(0.91–0.98)
Lupsor等 ^[12]	2008	69/324	11.9	87	91	72	96	0.94(0.91–0.96)
Masuzaki等 ^[13]	2008	219/386	15.9	79	81	87	69	0.87(0.83–0.90)
Arena等 ^[15]	2008	29/150	14.8	94	92	73	98	0.98(0.95–0.99)
Lupsor等 ^[16]	2009	42/112	13.1	95	89	84	97	0.97(0.92–1.00)
Ichino等 ^[17]	2010	24/165	11.6	92	78	42	98	0.90(0.84–0.96)
Rizzo等 ^[18]	2011	30/139	11.0	70	82	53	90	0.80(0.72–0.86)
Patel等 ^[19]	2011	18/214	11.7	94	88	42	99	0.93(0.88–0.98)
Cho等 ^[20]	2011	6/86	14.7	100	89	40	100	0.96(0.90–0.99)
Kim等 ^[21]	2011	9/91	11.0	78	94	58	98	0.97(0.93–1.00)
Ferraioli等 ^[22]	2013	32/195	9.3	94	92	69	99	0.97(0.93–0.99)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

表 4 FS诊断CHB明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2–4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 ^[20]	2011	88/121	7.8	78	82	92	58	0.85(0.77–0.91)
Lesmana等 ^[26]	2011	73/117	5.9	60	64	73	49	0.61(0.51–0.72)
Vigan ò 等 ^[27]	2011	66/125	8.7	64	92	90	70	N
Ogawa等 ^[28]	2011	20/44	6.3	95	74	74	95	0.86
纪冬等 ^[30]	2011	236/313	9.3	55	95	97	41	0.79(0.74–0.84)
张旭等 ^[31]	2011	59/88	7.3	76	83	90	63	0.86
Kim等 ^[32]	2012	121/170	8.0	78	96	98	64	0.94(0.90–0.97)
Kim等 ^[33]	2012	164/194	8.8	78	87	97	42	0.87(0.80–0.94)
李建志等 ^[34]	2012	81/112	7.3	77	93	96	62	0.89(0.83–0.95)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积。

随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图5), 其值分别为45.10(23.02–88.36)、0.93, 合并敏感度和合并特异度分别为0.89(0.85–0.92)、0.84(0.82–0.86)。

2.3.3 FS诊断CHC和CHB肝纤维化分级的Meta分析: 4篇文献评价FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化和肝硬化的准确性(表6, 7)。对所有慢性病毒性肝炎者, 综合所有纳入的文献, 剔除其中重

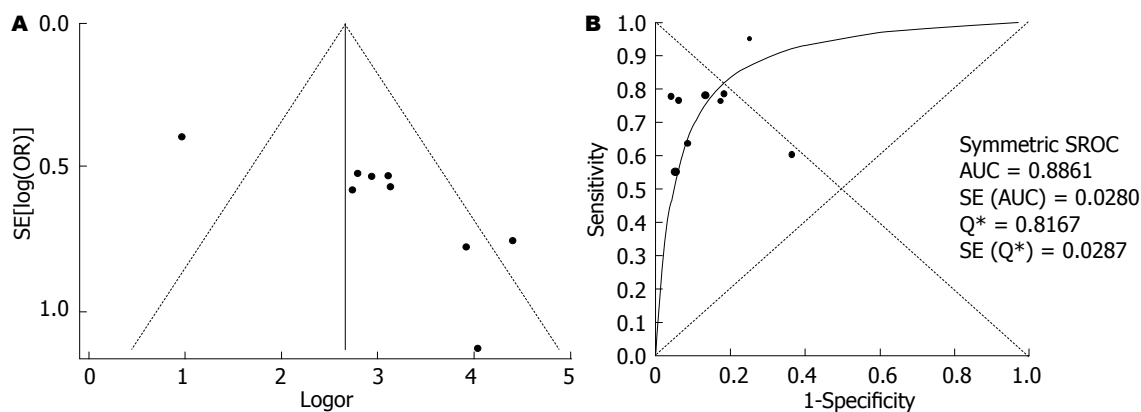


图 4 FS诊断CHB明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线. A: 漏斗图; B: SROC曲线.

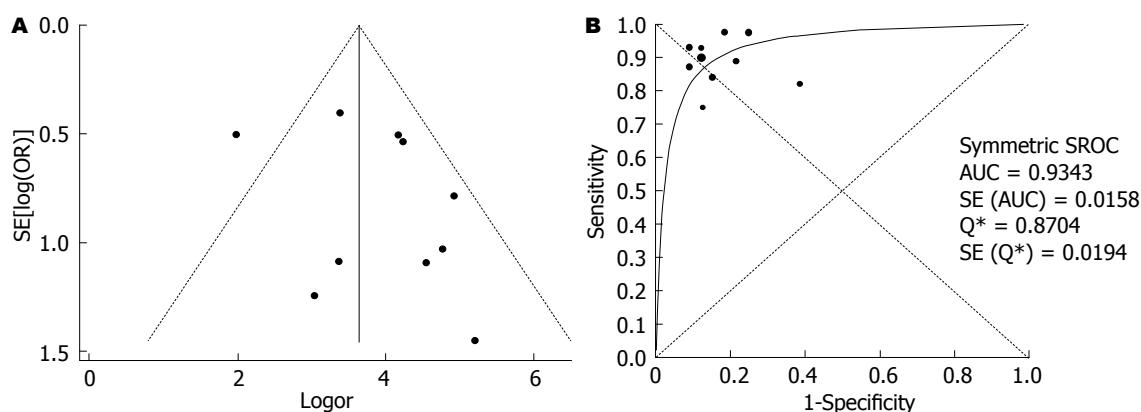


图 5 FS诊断CHB肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线. A: 漏斗图; B: SROC曲线.

表 5 FS诊断CHB肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 ^[20]	2011	9/121	14.0	88	79	25	99	0.87(0.79–0.92)
Chan等 ^[24]	2009	40/161	9.0	98	75	57	98	0.93(0.89–0.97)
Kim等 ^[25]	2009	39/91	9.7	82	62	63	76	0.80(0.69–0.92)
Vigano等 ^[27]	2011	20/125	9.4	100	82	51	100	N
Ogawa等 ^[28]	2011	4/44	12.0	75	89	38	98	0.89
Zhu等 ^[29]	2011	29/175	13.8	93	91	68	99	0.98(0.96–0.99)
纪冬等 ^[30]	2011	50/313	15.4	90	88	58	98	0.95(0.92–0.97)
张旭等 ^[31]	2011	14/88	12.4	93	88	50	98	0.95
Kim等 ^[32]	2012	47/170	14.0	87	91	79	95	0.96(0.94–0.99)
Kim等 ^[33]	2012	75/194	14.1	84	85	78	89	0.91(0.87–0.95)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; N: 原文献未提供; AUC: 曲线下面积.

复的数据, 24篇文献评价了FS诊断明显肝纤维化($F \geq 2$)的准确性, 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为0.142, $P = 0.507$, 表明尚不能认为存在阈值效应. DOR的 I^2 值为60.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图6), 其值分别为

18.51(13.28–25.80)、0.88, 合并敏感度和合并特异度分别为0.72(0.70–0.73)、0.85(0.83–0.87).

23篇文献评价了FS诊断肝硬化($F = 4$)的准确性, 灵敏度对数与“1-特异度”对数的Spearman相关系数为-0.009, $P = 0.966$, 表明尚不能认为存在阈值效应. DOR的 I^2 值为69.8, 表明存在较大的异质性, 同时漏斗图见个别研究

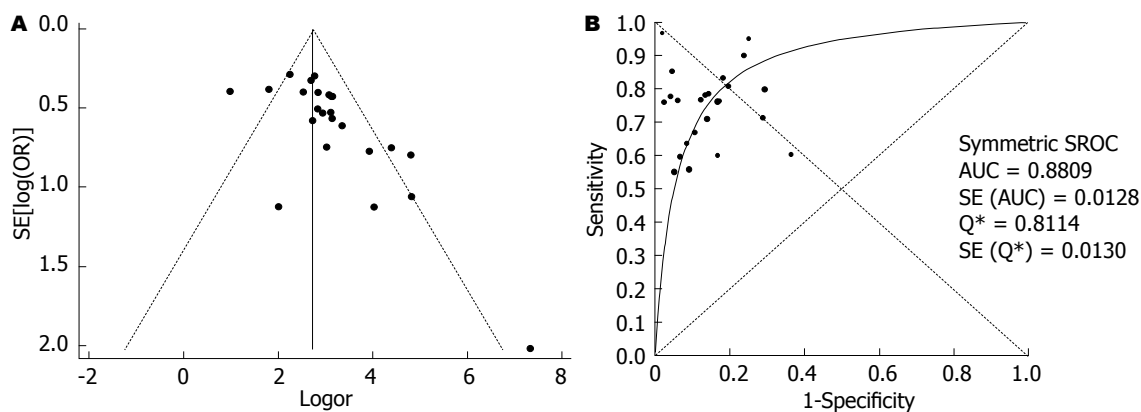


图 6 FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

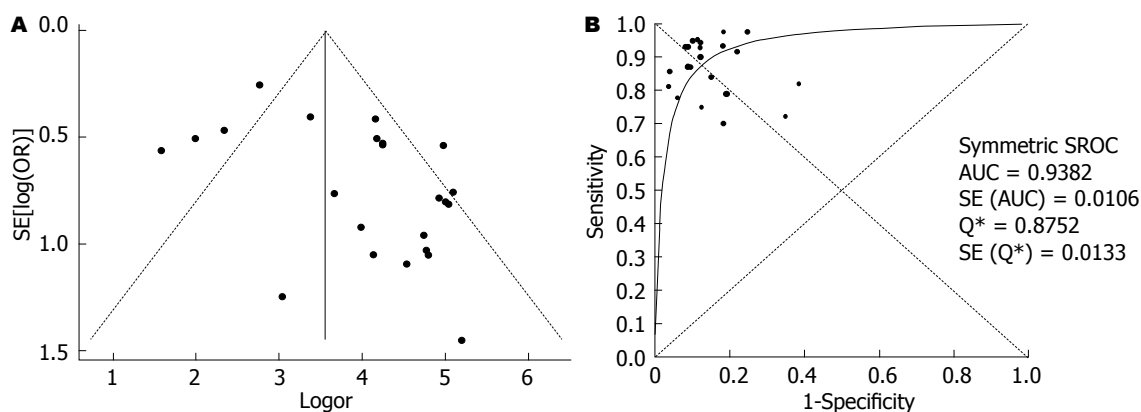


图 7 FS诊断CHC和CHB肝硬化的Meta分析漏斗图和SROC曲线。A: 漏斗图; B: SROC曲线。

表 6 FS诊断CHC和CHB明显肝纤维化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F2-4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 ^[20]	2011	144/207	7.8	79	86	93	64	0.89(0.84-0.93)
Ferraioli等 ^[22]	2013	117/246	6.9	71	86	82	77	0.86(0.81-0.90)
Sporea等 ^[35]	2010	65/71	7.6	60	83	97	16	0.73
Lee等 ^[36]	2010	100/121	6.5	90	76	95	62	0.93(0.88-0.99)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; AUC: 曲线下面积。

表 7 FS诊断CHC和CHB肝硬化的准确性的研究汇总

作者	发表时间	F4/n	界值(kPa)	SE(%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	AUC(95%CI)
Cho等 ^[20]	2011	15/207	14.0	93	82	29	99	0.91(0.86-0.94)
Ferraioli等 ^[22]	2013	39/246	9.6	95	90	64	99	0.96(0.93-0.98)
Sporea等 ^[35]	2010	16/71	13.0	81	96	85	93	0.94
Lee等 ^[36]	2010	18/121	11.0	72	65	27	93	0.75(0.62-0.89)

n: 纳入分析总数; SE: 敏感度; SP: 特异度; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值; AUC: 曲线下面积。

究在95%CI外, 故采用随机效应模型计算合并DOR和拟合SROC曲线(图7), 其值分别为 49.14(30.53-79.09)、0.94, 合并敏感度和合并特异度分别为0.86(0.84-0.88)、0.86(0.85-0.87)。

3 讨论

诊断性Meta分析通过AUC评估该诊断试验的准确性: $AUC \leq 0.5$ 表明该诊断试验无意义; $0.5 < AUC \leq 0.7$ 表明准确性较低; $0.7 < AUC \leq 0.9$ 表明准确性中等; $AUC > 0.9$ 表明准确性较高, 即越接近于1(曲线越接近左上角)表明准确性越高. FS自问世十年来, 在全球范围内不断推广使用, 其简易的操作性、稳定的重复性、可靠的准确性得到越来越多中心的认可, 虽然抗病毒治疗的进展使得乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染的发病率和肝硬化相关并发症的发生率得到有效的控制, 但庞大的患病人群基数迫切需要简便有效的工具监测疾病进展和评估治疗效果. 本文以发生明显肝纤维化($F \geq 2$)和肝硬化($F = 4$)为研究对象, 基于发生明显肝纤维化是决定是否行抗病毒治疗的重要参考^[37], 发生肝硬化是密切监测胃-食管静脉曲张、肝细胞癌、腹水、肝性脑病等并发症的重要参考.

在欧美国家, 以HCV导致的病毒性肝炎为主, 各中心得出的FS诊断CHC明显肝纤维化($F \geq 2$)的界值在6.2-10.1 kPa之间, 诊断肝硬化($F = 4$)的界值在9.3-15.9 kPa之间, Meta分析其合并敏感度、合并特异度、合并DOR及AUC分别为0.72(0.70-0.75)、0.85(0.83-0.87)、19.38(13.10-28.67)、0.88和0.85(0.81-0.87)、0.89(0.87-0.90)、59.95(31.05-115.76)、0.95.

在亚洲国家, 以HBV导致的病毒性肝炎为主, 各中心得出的FS诊断CHB明显肝纤维化($F \geq 2$)的界值在5.9-9.3 kPa之间, 诊断肝硬化($F = 4$)的界值在9.0-15.4 kPa之间, Meta分析其合并敏感度、合并特异度、合并DOR及AUC分别为0.70(0.67-0.73)、0.87(0.83-0.90)、19.84(9.35-42.09)、0.89和0.89(0.85-0.92)、0.84(0.82-0.86)、45.10(23.02-88.36)、0.93.

根据上述结果, 表明FS诊断肝纤维化分级具有较高的准确性, 不论是CHC或CHB, FS诊断肝硬化($F = 4$)的合并敏感度、合并特异度、合并DOR、AUC均优于诊断明显肝纤维化($F \geq 2$), 提示FS诊断肝硬化($F = 4$)的准确性更高; 对比CHC和CHB, FS诊断明显肝纤维化($F \geq 2$)和肝硬化($F = 4$)的准确性无明显差异; 但在CHC, FS诊断肝硬化($F = 4$)的合并DOR明显高于CHB.

Meta分析对所有慢性病毒性肝炎所得的结果, 与按CHC或CHB病因分类后Meta分析所得

的结果相比, 未见明显差异. 因此不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别. 尽管各中心得出的诊断界值参差不齐, 但对临床医师仍有指导意义. 对CHC患者, 在FS值为6.2 kPa时需警惕发生明显肝纤维化($F \geq 2$)的可能, 在FS值为9.3 kPa时需警惕发生肝硬化($F = 4$)的可能; 对CHB患者, 在FS值为5.9 kPa时需警惕发生明显肝纤维化($F \geq 2$)的可能, 在FS值为9 kPa时需警惕发生肝硬化($F = 4$)的可能.

值得注意的是, 即使各中心的最佳诊断界值均是在敏感度和特异度之和最大的条件下得出, 各中心的结论仍不完全一致, 有些甚至差别较大, 究其原因, 可能由各中心研究对象的BMI水平、ALT水平、操作者水平等因素不完全一致引起. 在临床实际应用时, 界值可以根据特定的需要而设定, 为减少误诊率可提高诊断界值以提高特异度, 为减少漏诊率可降低诊断界值以提高敏感度.

肝脏疾病的病因多种, 慢性肝炎长期发展均导致肝纤维化和肝硬化. 病因不同, 发生肝纤维化的时间、肝脏的病理学特征、肝脏的硬度不完全相同, 因此FS的诊断界值和诊断准确性不完全相同. FS在诊断慢性酒精性肝病^[38]、慢性非酒精性脂肪性肝病^[39]、原发性胆汁性肝硬化^[40]等疾病的研究均有报道.

此外, 在分析FS值时, 其影响因素不可忽视, 已经有研究表明, BMI水平^[41]、肝脏炎症程度 and 脂肪变程度^[42]、ALT水平^[43]等因素均可导致高估或低估FS值, 从而造成对肝纤维化分期的误判. 在临床上, 必须个体化评估病情, FS作为一种辅助检查工具对病情的判断具有重要参考价值, 但必须综合血清学指标和影像学检查才能准确评估病情, 给予恰当的治疗方案.

总之, FS诊断肝纤维化分级的准确性良好, 尤其对诊断肝硬化. 不论是CHC或CHB, FS诊断肝纤维化分级的准确性无明显差别.

4 参考文献

- 1 Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001; 344: 495-500 [PMID: 11172192 DOI: 10.1056/NEJM200102153440706]
- 2 Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003; 39: 239-244 [PMID: 12873821 DOI: 10.1016/S0168-8278(03)00191-0]
- 3 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B,

- Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713 [PMID: 14698338 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001]
- 4 Alberti A, Chemello L, Benvegnù L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1: 17-24 [PMID: 10622555 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80369-9]
 - 5 McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S45-S55 [PMID: 19399792 DOI: 10.1002/hep.22898]
 - 6 Bedossa P, Poinard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Co-operative Study Group. *Hepatology* 1996; 24: 289-293 [PMID: 8690394 DOI: 10.1002/hep.510240201]
 - 7 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]
 - 8 Whiting PF, Weswood ME, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PN, Kleijnen J. Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *BMC Med Res Methodol* 2006; 6: 9 [PMID: 16519814 DOI: 10.1186/1471-2288-6-9]
 - 9 Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54 [PMID: 15690481 DOI: 10.1002/hep.20506]
 - 10 Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-350 [PMID: 15685546 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.018]
 - 11 Colletta C, Smirne C, Fabris C, Toniutto P, Rapetti R, Minisini R, Pirisi M. Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases. *Hepatology* 2005; 42: 838-845 [PMID: 16121354 DOI: 10.1002/hep.20814]
 - 12 Lupșor M, Badea R, Ștefănescu H, Grigorescu M, Sparchez Z, Serban A, Branda H, Iancu S, Maniu A. Analysis of histopathological changes that influence liver stiffness in chronic hepatitis C. Results from a cohort of 324 patients. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 155-163 [PMID: 18568136]
 - 13 Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, Goto T, Yoshida H, Kanai F, Sugioka Y, Ikeda H, Shiina S, Kawabe T, Omata M. Comparison of liver biopsy and transient elastography based on clinical relevance. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 753-757 [PMID: 18818788]
 - 14 Sporea I, Sirli R, Deleanu A, Tudora A, Curescu M, Cornianu M, Lazar D. Comparison of the liver stiffness measurement by transient elastography with the liver biopsy. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6513-6517 [PMID: 19030204 DOI: 10.3748/wjg.14.6513]
 - 15 Arena U, Vizzutti F, Abraldes JG, Corti G, Stasi C, Moscarella S, Milani S, Loreface E, Petrarca A, Romanelli RG, Laffi G, Bosch J, Marra F, Pinzani M. Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut* 2008; 57: 1288-1293 [PMID: 18448567 DOI: 10.1136/gut.2008.149708]
 - 16 Lupșor M, Badea R, Ștefănescu H, Sparchez Z, Branda H, Serban A, Maniu A. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 303-310 [PMID: 19795024]
 - 17 Ichino N, Osakabe K, Nishikawa T, Sugiyama H, Kato M, Kitahara S, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Arima Y, Shimazaki H, Suzuki K, Yoshioka K. A new index for non-invasive assessment of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4809-4816 [PMID: 20939109 DOI: 10.3748/wjg.v16.i38.4809]
 - 18 Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, Alessi N, Attanasio M, Petta S, Fatuzzo F, Montineri A, Mazzola A, L'abbate L, Nunnari G, Bronte F, Di Marco V, Craxi A, Cammà C. Comparison of transient elastography and acoustic radiation force impulse for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2112-2120 [PMID: 21971536 DOI: 10.1038/ajg.2011.341]
 - 19 Patel K, Friedrich-Rust M, Lurie Y, Grigorescu M, Stanciu C, Lee CM, Schiff ER, Häussinger D, Manns MP, Gerken G, Colle I, Torbenson M, Pulkstenis E, Subramanian GM, McHutchison JG, Zeuzem S. FibroSURE and FibroScan in relation to treatment response in chronic hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4581-4589 [PMID: 22147963 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4581]
 - 20 Cho HJ, Seo YS, Lee KG, Hyun JJ, An H, Keum B, Kim JH, Yim HJ, Jeon YT, Lee HS, Chun HJ, Um SH, Kim CD, Ryu HS. Serum aminotransferase levels instead of etiology affects the accuracy of transient elastography in chronic viral hepatitis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 492-500 [PMID: 21332545 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06419.x]
 - 21 Kim SU, Jang HW, Cheong JY, Kim JK, Lee MH, Kim DJ, Yang JM, Cho SW, Lee KS, Choi EH, Park YN, Han KH. The usefulness of liver stiffness measurement using FibroScan in chronic hepatitis C in South Korea: a multicenter, prospective study. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 171-178 [PMID: 21175811 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06385.x]
 - 22 Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Lissandrini R, Filice G, Filice C, Above E, Barbarini G, Brunetti E, Calderon R, Di Gregorio M, Gulminetti R, Lanzarini P, Ludovisi S, Maiocchi L, Malfitano A, Michelone G, Minoli L, Mondelli M, Novati S, Patruno SF, Perretti A, Poma G, Sacchi P, Zanaboni D, Zaramella M. Performance of liver stiffness measurements by transient elastography in chronic hepatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 49-56 [PMID: 23326162 DOI: 10.3748/wjg.v19.i1.49]
 - 23 Bosselut N, Taibi L, Guéchet J, Zarski JP, Sturm N, Gelineau MC, Poggi B, Thoret S, Lasnier E, Baudin B, Housset C, Vaubourdolle M. Including osteopontin and collagen IV in a score-based blood test for liver fibrosis increases diagnostic accuracy. *Clin Chim Acta* 2013; 415: 63-68 [PMID: 23022619 DOI: 10.1016/j.cca.2012.09.020]
 - 24 Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan FK, Sung JJ, Wong VW. Alanine

- aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2009; 16: 36-44 [PMID: 18673426 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2008.01037.x]
- 25 Kim do Y, Kim SU, Ahn SH, Park JY, Lee JM, Park YN, Yoon KT, Paik YH, Lee KS, Chon CY, Han KH. Usefulness of FibroScan for detection of early compensated liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1758-1763 [PMID: 19005758 DOI: 10.1007/s10620-008-0541-2]
- 26 Lesmana CR, Salim S, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA, Pakasi LS, Lesmana LA, Krisnuhoni E, Budihusodo U. Diagnostic accuracy of transient elastography (FibroScan) versus the aspartate transaminase to platelet ratio index in assessing liver fibrosis in chronic hepatitis B: the role in primary care setting. *J Clin Pathol* 2011; 64: 916-920 [PMID: 21670074 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200044]
- 27 Viganò M, Paggi S, Lampertico P, Fraquelli M, Masironi S, Ronchi G, Rigamonti C, Conte D, Colombo M. Dual cut-off transient elastography to assess liver fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 353-362 [PMID: 21631559 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04722.x]
- 28 Ogawa E, Furusyo N, Murata M, Ohnishi H, Toyoda K, Taniai H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J. Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog. *Hepatol Res* 2011; 41: 1178-1188 [PMID: 21917085 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00869.x]
- 29 Zhu X, Wang LC, Chen EQ, Chen XB, Chen LY, Liu L, Lei XZ, Liu C, Tang H. Prospective evaluation of FibroScan for the diagnosis of hepatic fibrosis compared with liver biopsy/AST platelet ratio index and FIB-4 in patients with chronic HBV infection. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2742-2749 [PMID: 21399926 DOI: 10.1007/s10620-011-1659-1]
- 30 纪冬, 邵清, 韩萍, 张健, 牛小霞, 李冰, 李梵, 陈国凤. 瞬时弹性成像联合血清学标志物检测对肝纤维化的诊断效能分析. *解放军医学杂志* 2011; 36: 1136-1138
- 31 张旭, 陆伟, 王春妍. Fibroscan对慢性乙型肝炎肝脏纤维化的诊断价值. *天津医药* 2011; 39: 236-238
- 32 Kim BK, Kim HS, Park JY, Kim do Y, Ahn SH, Chon CY, Park YN, Han KH, Kim SU. Prospective validation of ELF test in comparison with Fibroscan and FibroTest to predict liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e41964 [PMID: 22848675 DOI: 10.1371/journal.pone.0041964]
- 33 Kim BK, Kim SU, Kim HS, Park JY, Ahn SH, Chon CY, Cho IR, Joh DH, Park YN, Han KH, Kim do Y. Prospective validation of FibroTest in comparison with liver stiffness for predicting liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One* 2012; 7: e35825 [PMID: 22536445 DOI: 10.1371/journal.pone.0035825]
- 34 李建志, 李洁, 熊春梅, 张梅芳, 郑雪, 张灵云, 张国全, 孙爱华, 单容. Fibroscan测定与超声影像学检查在诊断慢性乙肝相关肝纤维化中的价值. *山东大学学报(医学版)* 2012; 50: 115-118
- 35 Sporea I, Sirlu R, Popescu A, Danilă M. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)—a new modality for the evaluation of liver fibrosis. *Med Ultrason* 2010; 12: 26-31 [PMID: 21165451]
- 36 Lee MH, Cheong JY, Um SH, Seo YS, Kim DJ, Hwang SG, Yang JM, Han KH, Cho SW. Comparison of surrogate serum markers and transient elastography (Fibroscan) for assessing cirrhosis in patients with chronic viral hepatitis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3552-3560 [PMID: 20428950 DOI: 10.1007/s10620-010-1219-0]
- 37 Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1147-1171 [PMID: 15057920 DOI: 10.1002/hep.20119]
- 38 Nahon P, Kettaneh A, Tengher-Barna I, Zioli M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Ganne-Carrié N, Trinchet JC, Beaugrand M. Assessment of liver fibrosis using transient elastography in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2008; 49: 1062-1068 [PMID: 18930329 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.08.011]
- 39 Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, Nozaki Y, Yonemitsu K, Higurashi T, Takahashi H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Tamano M, Hiraishi H, Maeyama S, Yamaguchi N, Togo S, Nakajima A. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis* 2008; 40: 371-378 [PMID: 18083083 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.019]
- 40 Floreani A, Cazzagon N, Martinez D, Cavalletto L, Baldo V, Chemello L. Performance and utility of transient elastography and noninvasive markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 887-892 [PMID: 21783442 DOI: 10.1016/j.dld.2011.06.011]
- 41 Das K, Sarkar R, Ahmed SM, Mridha AR, Mukherjee PS, Das K, Dhali GK, Santra A, Chowdhury A. "Normal" liver stiffness measure (LSM) values are higher in both lean and obese individuals: a population-based study from a developing country. *Hepatology* 2012; 55: 584-593 [PMID: 21952989 DOI: 10.1002/hep.24694]
- 42 Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Donato MF, Ronchi G, Conte D, Rumi M, Lampertico P, Colombo M. Etiology-related determinants of liver stiffness values in chronic viral hepatitis B or C. *J Hepatol* 2011; 54: 621-628 [PMID: 21146243 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.017]
- 43 Chen XB, Zhu X, Chen LY, Chen EQ, Tang H. [Accuracy of FibroScan for the diagnosis of liver fibrosis influenced by serum alanine aminotransferase levels in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2011; 19: 286-290 [PMID: 21586228]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值

马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏

■背景资料

随着现代医学技术的发展, 逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已经成为治疗胆总管结石的首选治疗方法。但肝硬化失代偿期患者由于病史长, 常伴有食管静脉曲张及肝性脑病等并发症, 当合并胆总管结石时在临床治疗的过程中有一定的风险及困难, 其手术风险比无肝硬化者显著增高。对于此类患者的治疗需要根据具体病情采取不同的治疗方案。Child-Pugh分级对内镜下的治疗方式和预后有重要意义。术前对肝功能的充分评估, 严格选择适应症, ERCP手术前后充分准备, 有助于减少肝损害及肝衰竭的发生, 并降低死亡率, 对临床具有指导意义。

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

马茂源, 泰州市第二人民医院 江苏省泰州市 225500

蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

马茂源, 副主任医师, 主要从事消化内科及消化内镜临床及基础研究。

南京医科大学科技发展基金资助项目, No. 2012NJMU086

作者贡献分布: 马茂源与蒋国斌对此文所作贡献均等; 本文由马茂源、季国忠及王敏设计; 治疗过程由王翔、缪林及王敏主要操作; 蒋国斌辅助操作完成; 病例随访由王敏完成; 病例收集、整理、统计及论文写作由马茂源、蒋国斌及王敏完成。

通讯作者: 王敏, 副主任医师, 210011, 江苏省南京市姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心。

beautywang@yeah.net

电话: 025-58509885

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-10-01

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-28

ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis

Mao-Yuan Ma, Guo-Bing Jiang, Xiang Wang, Lin Miao, Guo-Zhong Ji, Min Wang

Mao-Yuan Ma, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Taizhou City, Taizhou 225500, Jiangsu Province, China

Guo-Bing Jiang, Xiang Wang, Lin Miao, Guo-Zhong Ji, Min Wang, Digestive Endoscopy Institute and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Nanjing Medical University, No. 2012NJMU086

Correspondence to: Min Wang, Associate Chief Physician, Digestive Endoscopy Institute and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. beautywang@yeah.net

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-10-01

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To explore the indications, operational skills and risk factors of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in the treatment of choledocholithiasis with cirrhosis.

METHODS: Clinical data for 41 patients with choledocholithiasis with cirrhosis who underwent ERCP at the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from June 2002 to

June 2013 were retrospectively analyzed. Intra-ERCP and post-ERCP complications and mortality rate were observed.

RESULTS: Nine patients were classified as Child-Pugh A, nineteen as Child-Pugh B, and thirteen as Child-Pugh C. The success rate of ERCP was 97.6% (40/41). Complications included bleeding and infection, which occurred only in patients with Child-Pugh C disease (all cured afterwards). Intraoperative and postoperative hemorrhage occurred in one respective case. Severe pulmonary infection occurred in 1 patient, who died 3 d post operation. No postoperative pancreatitis or perforation was found. Two patients were lost to follow-up. Of the other patients, 6 died of primary malignant tumor or liver cirrhosis-related complications in 2 mo to 3 years, and 33 patients are still alive.

CONCLUSION: ERCP has a considerable risk and difficulty in the treatment of choledocholithiasis in patients with cirrhosis and therefore needs to perform by experienced endoscopists. Patients with Child-Pugh A and B disease can undergo ERCP, but those with Child-Pugh C can not undergo ERCP until their liver function and general condition are improved after conservative therapies.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Endoscopy; Choledocholithiasis; Complications

Ma MY, Jiang GB, Wang X, Miao L, Ji GZ, Wang M. ERCP for treatment of choledocholithiasis in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3736-3741
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3736.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3736>

摘要

目的: 探讨肝硬化合并胆总管结石患者行逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的手术技巧, 可能

存在的风险及处理措施。

方法: 回顾性分析作者在南医大二附院消化医学中心进修以来, 自2002-06/2013-06间收治的41例胆总管结石合并肝硬化患者的临床资料, 总结ERCP术中的经验教训, 同时观察患者于ERCP术前术后的病情变化及并发症等情况。

结果: 本组病例共41例患者, Child-Pugh A级9例, Child-Pugh B级19例, Child-Pugh C级13例。其中插管失败1例, 插管成功率为97.6%(40/41)。并发出血共2例, 均为Child C级患者, 其中术中并发出血1例, 术后并发出血1例, 经治疗出血均停止。术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡, 无一例并发ERCP术后胰腺炎及穿孔。41例患者2例失访。39例中6例于术后2 mo至3年后死于肝硬化相关并发症, 其中1例死于肝性脑病, 4例死于上消化系大出血, 1例死于继发重症感染; 其余33例仍存活。

结论: 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧。同时建议尽量选择Child A及B级患者手术, Child C级在术前应当尽可能改善肝功能至Child B级, 可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 逆行胆胰管造影; 内镜; 胆总管结石; 并发症

核心提示: 胆总管结石合并肝硬化患者行逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧。在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术, 可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

马茂源, 蒋国斌, 王翔, 缪林, 季国忠, 王敏. 胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP的临床价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3736-3741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3736.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3736>

0 引言

随着现代医学技术的发展, 逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography,

ERCP)已经成为治疗胆总管结石的首选治疗方法^[1-3]。但肝硬化患者由于病史长, 患者常伴有肝功能不良、腹水、食管静脉曲张及肝性脑病等, 当合并胆管结石时在临床治疗的过程中受到一定限制。而胆管结石易合并梗阻性黄疸、感染, 可加重肝功能损害, 当并存肝硬化时其手术风险比无肝硬化者显著增高^[4]。本文对在南京医科大学第二附属医院进修前后收治的胆管结石合并肝硬化患者用ERCP治疗的临床资料总结如下, 希望能够为内镜医生提供一定的借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2002-06/2013-06南医大二附院消化医学中心收治的胆管结石合并肝硬化患者41例, 其中男22例, 女19例, 平均年龄63.9岁±13.1岁。41例患者中, 临床表现为上腹不适2例; 腹痛9例, 其中2例合并有发热; 黄疸30例, 其中10例合并有发热, 12例合并有腹痛, 2例合并有腹痛及发热。十二指肠侧视镜(Olympus TJF-240, Japan), 附件为Olympus(Japan)、Cook(American)、Boston(American)等公司生产的造影导管、导丝、气囊、切开刀、取石网篮、碎石网篮、鼻胆引流管、鼻胰引流管、塑料胆道内支管、金属胆道支架、高频电发生器、岛津X光机等。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 所有患者在行ERCP前均常规行胃镜检查, 判断有无食管或胃底静脉曲张及明确是否合并消化性溃疡等情况。然后采用经内镜下十二指肠乳头插管的方式进行ERCP。患者取俯卧位, 术前常规肌肉注射地西洋2.5或5 mg(重度黄疸的患者不注射地西洋)、山莨菪碱10 mg, 哌替啶50 mg。治疗过程中持续吸氧, 监测血氧饱和度和心率、呼吸等生命体征变化。

1.2.2 观察指标及诊断标准: 所有患者均于术后严密观察腹部症状、体征及有无出血、发热等情况; 放置鼻胆管的患者, 观察鼻胆管外引流物的情况; 并分别于术前、术后3 h及第2天检查血常规、血淀粉酶的情况, 第7天复查肝功能、胆红素及C-反应蛋白等生化指标。

出血的判断: 患者于术后出现明显的呕血、黑便或便血, 并需要及时补充红细胞悬液≥2 U者。**感染:** 患者术前无明显感染临床表现, 术后出现发热, 血白细胞及中性粒细胞大于正常范围者。非急性胰腺炎患者于术后查血清淀粉酶>500 U/L并伴有发热、腹痛、恶心、呕吐等

■ 研发前沿

ERCP目前是内镜微创治疗的热点, ERCP操作有一定的难度、风险, 合并肝硬化的胆总管结石患者更是高风险。国内目前已有相关报道, 但对于合并严重并发症的报道较少, 尤其是术后的处理措施及经验的介绍, 本文对于Child-pugh A、B及C级患者ERCP术前评估、术后治疗及相关并发症的临床处理措施及经验进行了详细的描述, 并对并发症发生情况进行分析研究, 值得临床借鉴。

■ 相关报道

目前关于合并肝硬化的胆总管结石患者首选内镜下治疗的报道国内外有许多,并且大部分报道认为此类患者行ERCP是首选。国外报道认为,对于Child B级的患者可以取代外科手术作为首选的治疗方法,Child B及C级患者应当在内科保守治疗待肝功能改善后行ERCP术治疗,但对于Child C级的患者,当患者合并有威胁生命的并发症时应当首先考虑ERCP的治疗方法。本文经过统计分析发现Child C级患者并发症发生率高,有统计学意义,故建议Child C尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术。

表 1 41例患者的一般临床资料及肝硬化病因 (n)

病因	Child-pugh分级					
	Child A级		Child B级		Child C级	
	男	女	男	女	男	女
乙型肝炎后肝硬化	3	2	3	3	3	2
血吸虫肝硬化	1	0	1	3	0	2
酒精性肝硬化	0	0	0	0	1	0
原发性胆汁淤积性肝硬化	1	0	3	1	0	0
乙型肝炎合并酒精性肝硬化	0	0	0	0	1	0
特发性肝硬化	1	1	3	2	1	3
总计	6	3	10	9	6	7

表 2 Child分级与ERCP术后并发症的关系分析 (n)

Child 分级	有并发症	无并发症
Child A级	0	9
Child B级	0	19
Child C级	3	10

用Fisher精确检验: $P = 0.035$, 3组并发症之间差异有统计学意义。

症状者则诊断为ERCP术后胰腺炎。

1.2.3 治疗: 所有患者先行ERCP, 造影成功后进一步明确胆总管结石的位置、大小及数目, 然后根据具体情况采用不同的处理。(1)胆总管结石 ≤ 1 cm的, 凝血功能有明显异常的患者行内镜下气囊扩张, 凝血功能基本正常的患者则行内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST), 再用取石网篮取出结石;(2)对直径 ≥ 2 cm的巨大结石应先行机械碎石, 再用网篮取出, 对于无或轻度静脉曲张的患者可在胆总管内放置鼻胆管行外引流, 对于中重度静脉曲张的患者可放置塑料内支架引流;(3)胆总管巨大结石未能一次取尽者, 可根据患者病情直接放置胆道塑料内支架或放置鼻胆管引流1-2 wk后再行内镜下取石, 合并有中重度食管胃底静脉曲张者不放置鼻胆管;(4)合并胆总管炎性狭窄者, 根据其狭窄长短不同, 于EST后给予胆管扩张治疗并放置鼻胆管, 促使胆汁引流减压减轻黄疸;(5)合并急性化脓性胆管炎患者, 先放置鼻胆管引流, 待病情好转后再根据情况进一步治疗。

术后常规禁食, 给予抗感染、抑制胰酶分泌及止血等治疗, 第1天的血淀粉酶正常且无腹痛等并发症者, 第2天进食, 异常者监测至正常。

统计学处理 统计分析采用统计软件SPSS11.0进行, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

41例患者的一般临床资料如表1。按Child-Pugh标准^[5]分级, Child-Pugh A级9例, Child-Pugh B级19例, Child-Pugh C级13例。

2.1 ERCP术后结果 41例患者, 1例插管失败, 造影成功40例, 成功率97.5%。胆总管多发结石25例; 胆总管单发结石16例, 其中1例为巨大结石。胆总管结石合并急性胆管炎12例, 合并肝门部肿瘤1例, 合并急性胆源性胰腺炎2例, 胆总管结石合并Mirizzi综合征1例, 后转至外科手术。

2.2 合并食管及胃底静脉曲张情况 41例患者中有23例合并食管静脉曲张(其中轻度14例, 中度4例, 重度5例), 23例患者中有1例患者合并有食管及胃底静脉曲张, 18例患者无明显食管或胃底静脉曲张。

2.3 ERCP术中处理情况 23例合并有食管或胃底静脉曲张的患者, 其中9例因巨大结石或多发结石放置塑料支架(其中3例放置塑料双支架内引流, 6例放置单支架引流), 2例急性胆源性胰腺炎合并有胆总管结石患者不合并有静脉曲张, 术中取石后放置鼻胆管引流管, 术后恢复良好。12例合并有急性胆管炎的患者, 均合并有食管静脉曲张, 其中3例患者因病情危重, 急诊放置塑料支架后病情得到迅速缓解, 择期行ERCP取石。

2.4 术后并发症发生情况 术后共发生各种并发症3例(占7.3%), 其中并发出血2例, 3例患者均为Child C级患者, 其中术中并发出血1例, 术后并发出血1例, 经治疗出血均停止。术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡。Child分级与ERCP术后并发症的关系分析如表2, 说明Child C级患者并发症发生率高, 有统计学意义, ($P = 0.035$, Fisher精确检验)。无1例并发ERCP术后胰腺炎及穿孔。

2.5 随访情况 2例失访. 39例中6例于术后2 mo至3年后死于肝硬化相关并发症, 其中1例死于肝性脑病, 4例死于上消化道大出血, 1例死于继发重症感染; 其余33例仍存活且继续行保肝等对症治疗, 仍在随访中.

3 讨论

据报道, 肝硬化患者合并胆总管结石的发生率明显高于正常人群^[6], 其中94%的患者会发生胆道梗阻症状^[7], 从而导致肝功能损害加重. 因此, 对于肝硬化合并胆总管结石患者不管是否存在发热、黄疸等临床表现都应积极治疗.

肝硬化患者合并胆总管结石时手术难度高, 风险大是因为: (1)肝硬化患者凝血功能差, 出血不易自止, EST过程中易发生出血; (2)胆总管结石合并感染、ERCP术中应用造影剂及肝硬化的多重打击, 加重肝功能损害, 同时常合并营养不良, 低白蛋白血症, 水、电解质代谢紊乱, 使术后感染、肝性脑病及肝功能衰竭等并发症增加. 因此此类患者手术后易感染, 易出血, 甚至出现脏器功能不全等并发症^[8]. 目前国内外已有报道ERCP治疗肝硬化合并胆总管结石的相关报道^[9-11], 其中出血、感染及胰腺炎是最受内镜医生关注的部分. 此类患者行ERCP的原则是快速、准确、安全、有效. 本组病例中, 对于合并急性胆管炎的患者, 先行鼻胆管或支架引流, 待病情好转后再择期取石; 对于多发及巨大结石, 一次不能取净或需较长手术时间者先放置胆道塑料支架或鼻胆管, 分次取出, 本组病例中共有11例患者放置塑料支架, 其中6例患者于3-15 mo后再次于我院或外院取石, 4例患者于第一次ERCP术后经对症治疗病情好转后1 wk左右再次行ERCP术取石, 2例失访.

目前关于合并肝硬化的胆总管结石患者首选内镜下治疗的报道国内外^[10-15]有许多, 并且大部分报道认为此类患者行ERCP是首选. 国外报道^[12]认为, 对于Child B级的患者可以取代外科手术作为首选的治疗方法, Child B及C级患者应当在内科保守治疗待肝功能和一般状态改善后行ERCP术治疗, 但对于Child C级的患者, 当患者合并有威胁生命的并发症时应当首先考虑ERCP的治疗方法. 本组41例患者, 除1例患者ERCP插管失败改行PTCD, 1例患者术后继发感染1例, 因重症感染继发肝性脑病于术后第3天死亡外, 其余患者均预后良好. 因此我们认为,

Child A、B、C级患者均可行ERCP, 尤其是合并有急性胆源性胰腺炎和急性化脓性胆管炎时, 急诊ERCP对于患者的预后尤为重要. 但应当注意的是, 在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级或A级再行ERCP术.

在行ERCP的过程中我们体会, 对合并肝硬化的胆总管结石患者, 重视ERCP的操作技巧是预防及降低术中及术后出血、穿孔等并发症的关键: (1)对于胆管结石的位置、大小, ERCP插管成功后应如何处理以及在术中发生出血等并发症时应如何处理要有精细准备; (2)行ERCP插镜时动作轻柔, 尽量避免在插镜过程中出现曲张静脉破裂出血, 用网篮取石时尽量避免暴力牵拉取石及反复抖拉网篮的动作, 尽量拉直镜身, 缓慢匀速用力. 本组病例共有23例患者合并有轻至重度的食管静脉曲张, 在插镜过程中未出现出血的情况. 插管时动作轻柔, 尽量避免乳头多次插管致乳头出血, 本组病例有1例在插管过程中出现了乳头出血, 用去甲肾上腺素喷洒止血后插管成功. 同时要注意在插管成功后注射造影剂显影的过程中尽量少用造影剂, 以防造影剂进一步加重肝功能损伤; (3)在插管成功后胆总管结石的处理: 行EST时, 尽量行中小切开, 必要时也可结合气囊扩张; 如胆总管结石小, 也可直接选择扩张气囊扩张乳头口后再取石. 对于结石较大或多发结石患者, 建议行塑料支架植入术先缓解胆道梗阻, 待感染控制, 黄疸消退后, 择期进一步治疗, 本组病例中共11例患者由于胆总管结石较大或较多行塑料支架植入, 2例由于合并胆管狭窄行塑料支架植入, 这2例患者均恢复良好, 无出血、感染等并发症.

ERCP术后患者主要的并发症及风险为出血、感染、胰腺炎, 因此积极处理并发症对改善患者的预后具有重要意义.

如ERCP术前常规行胃镜检查以明确是否合并食管、胃底静脉曲张及其程度, 对于肝脏功能有一个准确的评估. 对于凝血功能较差者应在术前输血浆、血小板及维生素K等, 以纠正凝血缺陷. 对于Child C级患者尽量在术前改善肝脏功能至B级, 并选择恰当的时机手术可以避免手术时机不当而导致术后大出血、感染等并发症.

■创新盘点

胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险, 要求术者有熟练的操作技巧. 在本组病例中, 发生并发症的均为Child C级的患者, 且我们的统计学结果显示3组之间并发症有统计学意义, 因此对于Child C级患者尤其应当警惕术中及术后的并发症情况, 尽量在术前改善肝脏功能至B级再行ERCP术. 可降低ERCP术中及术后并发症的发生.

■应用要点

本文对临床医生具有较强的指导意义。对合并肝硬化的胆总管结石患者,重视ERCP的操作技巧,如术前要有精细准备,行ERCP时动作轻柔,尽量避免暴力。建议有经验的内镜医师操作。同时建议在术前尽可能将Child C级改善肝功能至Child B级或A级,可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

胆总管结石合并肝硬化患者本身机体抵抗力、免疫力下降,术前常常合并严重的胆道感染。再加上ERCP手术创伤及术中造影剂的应用等打击,更容易发生术后感染,胆道感染严重时还可继发肝脓肿。尽早取出胆总管结石,保持胆管引流通畅,就可以控制感染,减少感染对于肝脏功能的进一步损伤。因此术前应当积极抗感染治疗,同时积极改善肝功能。本组患者有1例患者由于术后重症感染并发DIC于术后第3天死亡。因此尤其要注意术前、术后选择敏感的抗生素,且尽量选择对肝功能影响小的抗生素,此外还要注意防止二重感染及真菌感染。

肝硬化患者由于食管静脉曲张或凝血功能障碍,增加了ERCP过程中或术后出血的风险,尤其是EST过程中。有文章报道,肝硬化患者行EST过程中容易出血,死亡率高达14.3%-16.0%^[16]。本组病例中发生两例出血,其中1例为术中行EST时出血,于内镜下用去甲肾上腺素喷洒止血后出血停止,待ERCP结束时放置塑料支架并再次观察无活动性出血后结束治疗。另外1例为术后12 h出现黑便,后行急诊内镜发现EST切缘处渗血,于内镜下行电针止血。两例出血均得到有效控制。此两例患者均为Child C级。因此对于Child C级患者行EST时要特别注意术中及术后出血的问题。对于Child C级的患者我们建议在术前尽量改善肝功能至B级或A级,或者通过输凝血因子或血浆等方式改善患者的凝血功能,如此可以最大程度地避免与EST相关的出血问题。

对于合并有食管静脉曲张的患者,因内镜反复牵拉、放置鼻胆引流管及放置取出塑料支架等操作容易导致曲张静脉破裂出血,因此国内有文章报道先行内镜下静脉曲张的治疗^[10,17],然后再行ERCP内镜下治疗的方法,取得了不错的疗效,值得借鉴。在本组病例中亦有1例患者既往曾有上消化系出血食管静脉曲张套扎病史,因此避免ERCP取石术引起的食管静脉曲张破裂出血风险。

肝硬化患者多合并食道静脉曲张、凝血功能异常,因此ERCP手术后鼻胆管引流尤其要慎重。对于此类患者我们建议合并轻度静脉曲张的患者可以考虑放置鼻胆管引流,而合并中重度食管静脉曲张的患者建议放置塑料支架内引流。尤其是合并有急性胆管炎需急诊处理的患者,更是要根据情况决定引流方式,而不能先处理

食管静脉曲张。本组病例中有12例患者合并有急性胆管炎,其中3例患者因重度静脉曲张放置了塑料支架,4例轻度食管静脉曲张的患者放置了鼻胆管,无出血的情况出现。

与传统手术相比,内镜治疗的优势有:(1)手术为微创,术后恢复快;(2)手术时间短,术中可根据具体情况选择治疗的方式,如放置鼻胆管、塑料支架等;(3)ERCP术前给予咽部局麻,根据患者的具体情况选择用少量安定及杜冷丁,较外科全麻的风险小。

总之,肝硬化是影响胆总管结石患者行ERCP的安全性及增加术后并发症发生率和病死率的危险因素之一。胆总管结石合并肝硬化患者行ERCP有一定难度及风险,要求术者有熟练的操作技巧,同时Child-Pugh分级对内镜下的治疗方式和预后也有重要意义。术前对肝功能充分评估,对于Child A、B、C级患者均可行ERCP,但是Child C级的患者发生出血、感染等各种术后严重并发症的风险更高,因而建议在术前尽可能改善肝功能至Child B级或A级,可降低ERCP术中及术后并发症的发生。

4 参考文献

- 1 Tantau M, Mercea V, Crisan D, Tantau A, Mester G, Vesa S, Sparchez Z. ERCP on a cohort of 2,986 patients with cholelithiasis: a 10-year experience of a single center. *J Gastrointest Liver Dis* 2013; 22: 141-147 [PMID: 23799212]
- 2 Croagh DG, Devonshire D, Poh B, Berry R, Bowers K, Spiliadis D, Cullinan M, Cashin P. Management of CBD stones in patients having laparoscopic cholecystectomy in a private setting in Australia. *ANZ J Surg* 2013 Aug 1. [Epub ahead of print] [PMID: 23910427 DOI: 10.1111/ans.12341]
- 3 Kuo CM, Chiu YC, Changchien CS, Tai WC, Chuah SK, Hu TH, Kuo YH, Kuo CH. Endoscopic papillary balloon dilation for removal of bile duct stones: evaluation of outcomes and complications in 298 patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 860-864 [PMID: 23060218 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182617a42]
- 4 Grubnik VV, Koval'chuk AL, Diuzhev AS. [Characteristics of laparoscopic interventions in the patients with calculous cholecystitis complicated with hepatic cirrhosis]. *Klin Khir* 2007; (1): 16-19 [PMID: 17438718]
- 5 Conte D, Barisani D, Mandelli C, Bodini P, Borzio M, Pistoso S, Segala M, Aimò GP, Fraquelli M, Bianchi PA. Cholelithiasis in cirrhosis: analysis of 500 cases. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 1629-1632 [PMID: 1951241]
- 6 Acalovschi M, Badea R, Pascu M. Incidence of gallstones in liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 1179-1181 [PMID: 1882796]
- 7 王仙芝. 肝硬化与胆石症因果关系之探讨. *临床消化病杂志* 1999; (3): 135-136
- 8 汪邵平, 霍枫, 詹世林, 裴世强, 张玉新. 肝硬化病人肝

- 胆手术的风险因素分析. 中国实用外科杂志 2003; 23: 427-428
- 9 楼颂梅, 张啸, 张筱凤. 内镜下乳头切开术与外科手术治疗胆总管结石合并肝硬化的回顾性分析. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 67-70
- 10 李素萍, 薛迪强, 杜宏伟, 何晓霞. 内镜下治疗肝硬化食管胃底静脉曲张并胆总管结石52例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3154-3158
- 11 吴正奇, 范志宁, 王敏. 十二指肠镜在治疗胆胰疾病合并肝硬化中的价值. 中国微创外科杂志 2011; 11: 700-703
- 12 Prat F, Tennenbaum R, Ponsot P, Altman C, Pelletier G, Fritsch J, Choury AD, Bernades P, Etienne JP. Endoscopic sphincterotomy in patients with liver cirrhosis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 127-131 [PMID: 8635706 DOI: 10.1016/S0016-5107(06)80114-8]
- 13 邓燕. 合并肝硬化食道胃底静脉曲张患者实施十二指肠镜下胆总管取石的护理体会. 临床合理用药杂志 2013; 6: 153-154
- 14 曹伟民, 张荣春. 17例肝硬化合并胆总管结石行ERCP干预的经验分析. 新疆医学 2013; 43: 53-54
- 15 徐琳, 王峰, 李继珠, 张宇飞, 宣估. 双镜联合治疗肝硬化患者胆囊结石和胆总管结石的疗效分析. 临床外科杂志 2011; 19: 751-753
- 16 Chijiwa K, Kozaki N, Naito T, Kameoka N, Tanaka M. Treatment of choice for choledocholithiasis in patients with acute obstructive suppurative cholangitis and liver cirrhosis. *Am J Surg* 1995; 170: 356-360 [PMID: 7573728 DOI: 10.1016/S0002-9610(99)80303-1]
- 17 张波, 黄留业, 吴承荣, 林淑娟. 肝硬化伴中重度食管胃底静脉曲张合并胆总管结石内镜序贯治疗疗效观察. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 406-408

■同行评价

本文总结41例ERCP治疗的资料, Child B级和C级为主, 资料可靠, 具有一定的临床指导价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义

杨雅阁, 张炳勇, 刘 龙, 白阳秋, 曹名波

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)是世界上最常见的恶性肿瘤之一,大部分HCC患者在明确诊断时已经是中晚期肝癌,失去了手术切除及其他根治性手术的机会;寻找肝细胞癌分子靶点,尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发,并为临床有效治疗提供分子基础是肝癌防治研究工作的重点。组织蛋白酶(Cathepsin S, Cat S)是一种半胱氨酸蛋白水解酶,能介导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解,参与肿瘤血管生成和血管内外肿瘤细胞的转移,在人类的多种肿瘤中表达。近年来研究发现血清Cat S含量与癌症死亡率呈显著正相关。然而,有关血清Cat S含量在肝癌中的研究,国内外尚未见文献报道。

■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

杨雅阁, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波, 河南省人民医院消化内科 河南省郑州市 450003

杨雅阁, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由张炳勇与杨雅阁设计; 主要实验、数据分析及文章起草由杨雅阁完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由刘龙、白阳秋及曹名波完成; 研究所用材料与试剂由张炳勇提供; 文章修改与审阅由张炳勇完成。

通讯作者: 张炳勇, 教授, 主任医师, 450003, 郑州市纬五路7号, 河南省人民医院消化内科. zhbingyong@sina.com.cn
电话: 0371-65580713

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2013-09-10

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-11-28

Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma

Ya-Ge Yang, Bing-Yong Zhang, Long Liu, Yang-Qiu Bai, Ming-Bo Cao

Ya-Ge Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Bing-Yong Zhang, Long Liu, Yang-Qiu Bai, Ming-Bo Cao, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

Correspondence to: Bing-Yong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, 7 Weiwu Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. zhbingyong@sina.com.cn

Received: 2013-08-23 Revised: 2013-09-10

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of serum Cathepsin S (Cat S) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot were used to detect the expression of Cat S mRNA and protein in 62 HCC surgical specimens and matched tumor-adjacent non-cancerous specimens. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine serum levels of Cat S in 62 patients with HCC, 40 patients with cirrhosis and 30 healthy controls. The relationship between serum levels of Cat S and clinical and pathological parameters of hepatocellular carcinoma was analyzed.

RESULTS: The relative expression level of Cat S mRNA was significantly higher in HCC than in tumor-adjacent non-cancerous tissue (0.67 ± 0.15 vs 0.28 ± 0.12 , $P < 0.05$). The protein expression of Cat S in HCC was also significantly higher than that in tumor-adjacent non-cancerous tissues (0.81 ± 0.16 vs 0.35 ± 0.13 , $P < 0.05$). Serum Cat S levels in HCC patients were significantly higher than those in cirrhotic patients and healthy controls (131.46 ± 42.16 $\mu\text{g/L}$ vs 64.28 ± 12.71 $\mu\text{g/L}$, 50.2 ± 17.41 $\mu\text{g/L}$, both $P < 0.05$). Serum levels of Cat S in HCC were correlated with the formation of portal vein tumor thrombus, tumor size, extrahepatic metastasis and TNM stage (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Serum Cat S might serve as a novel tumor marker for hepatocellular carcinoma, and it may be helpful in diagnosing, evaluating prognosis and monitoring postoperative recurrence of HCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Serum; Cathepsin S; Enzyme linked immunosorbent assay

Yang YG, Zhang BY, Liu L, Bai YQ, Cao MB. Clinical significance of serum Cathepsin S in patients with hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3742-3746 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3742>

摘要

目的: 研究血清组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)在肝癌中的临床意义。

方法: 应用逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)和蛋白印迹法(Western blot)观察肝癌患者癌组织和癌旁组织中Cat S的表达情况,同时应用酶联免疫吸附技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测62例肝癌、40例肝硬化和30例健康对照组中血清Cat S含量,分析血清Cat S的表达水平与肝癌患者临床病理参数之间的关系。

结果: 肝癌患者癌组织中Cat S mRNA及蛋白表达水平均显著高于癌旁组织(mRNA: 0.67 ± 0.15 vs 0.28 ± 0.12 , $P < 0.05$; 蛋白: 0.81 ± 0.16 vs 0.35 ± 0.13 , $P < 0.05$); 肝癌组血清Cat S蛋白水平明显高于肝硬化组和正常对照组($131.46 \mu\text{g/L} \pm 42.16 \mu\text{g/L}$ vs $64.28 \mu\text{g/L} \pm 12.71 \mu\text{g/L}$ 、 $50.2 \mu\text{g/L} \pm 17.41 \mu\text{g/L}$, 均 $P < 0.05$); 肝癌患者血清Cat S含量与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关($P < 0.05$).

结论: 血清Cat S有可能成为一种新的具有临床应用价值的肿瘤标志物, 有助于肝癌的诊断、预后预测及术后复发的监测.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; 血清; 组织蛋白酶S; 酶联免疫吸附实验

核心提示: 我们的研究发现组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)mRNA及蛋白在肝癌组织中表达显著高于癌旁组织, 肝癌组患者血清Cat S含量明显高于肝硬化组和正常对照组, 肿瘤复发组血清Cat S含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组, 肝癌患者血清Cat S含量与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关. 提示检测血清Cat S含量有助于了解HCC的发生发展、判断HCC患者的病情及预后, 血清Cat S含量可作为HCC的疗效评价和动态随访指标.

杨雅阁, 张炳勇, 刘龙, 白阳秋, 曹名波. 肝癌患者血清Cathepsin S含量检测的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3742-3746 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3742>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全世界肿瘤疾病死亡中第3大最常见原因, 发病率和死亡率仍在逐年攀升^[1], 其5年生存率低下^[2]. HCC是一种血供丰富的恶性肿瘤, 血管再生与肿瘤细胞的浸润、复发、转移密切相关. 如何尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发是肝癌防治研究工作的重点. 组织蛋白酶S(Cathepsin S, Cat S)是一种半胱氨酸蛋白水解酶, 能介导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解, 近年来研究发现Cat S参与肿瘤血管的生成和血管内外肿瘤细胞的转移^[3-5]. 近期一些研究发现在前列腺癌、星型细胞瘤、肺癌、肝癌^[6-9]等组织

中Cat S的表达上调, 且其高表达与预后不良及复发相关. Jobs等^[10]研究发现血清Cat S含量与心血管疾病的死亡率和癌症死亡率呈显著正相关. 然而, 有关血清Cat S含量在肝癌的研究尚未见报道. 我们通过对Cat S在肝癌患者癌组织和癌旁组织中mRNA及蛋白表达情况进行研究, 同时对肝癌患者血清Cat S表达水平进行检测和分析, 探讨其在HCC发生发展中的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-03/2013-03河南省人民医院肝胆外科住院的肝癌患者62例, 其中男41例, 女21例, 年龄32-75岁, 平均年龄 50.2 ± 10.5 岁. 收集患者肿瘤切除后新鲜肝脏标本, 按照自身配对法留取患者的癌组织和癌旁组织(距癌灶边缘5.0 cm)各62例, 置于 -80°C 冰箱保存. 所有肝癌患者诊断均经过病理证实, 术前均未进行放疗及化疗. 其中HBsAg阳性者47例, HBsAg阴性者15例; 有门静脉癌栓者27例, 无门静脉癌栓者35例; 肿瘤直径(多发病灶时取直径总和均值) ≥ 5.0 cm 38例, 直径 < 5.0 cm 24例; 有肝外转移11例, 无肝外转移51例; 临床分期根据国际抗癌联盟的TNM系统分期法划分, I期5例、II期22例、III期24例、IV期11例; 按HCC的Edmondson病理分级, 高分化21例、中分化31例、低分化10例. 根据术后随访时间分为术后1 mo组57例, 术后6 mo组41例. 术后1年内随访中经病理证实肿瘤复发者, 设为肿瘤复发组13例. 选择本院消化内科肝硬化患者40例, 男25例, 女15例, 年龄35-70岁, 平均年龄45岁; 正常对照组30例为本院同期同年龄段健康体检者, 其中男性25例, 女性10例, 平均年龄42岁.

1.2 方法

1.2.1 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测Cathepsin S mRNA表达: TRIzol试剂分别提取肝癌患者癌组织和癌旁组织总RNA后, 取5 μg 总RNA合成第一链cDNA, 设计Cat S引物: 上游5'-TCTGTTGGTGATAGATGCG-3', 下游5'-AG-ATAAGGGTCTCGCGAT-3', 产物216 bp. 取1 μL cDNA按PCR试剂盒说明书进行扩增, 同时以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参基因, 水为阴性对照, 行PCR扩增: 95°C 5 min, 95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 40 s, 30个循环, 终末延伸 72°C 5 min. 取5 μL 的PCR扩增产物行1.5%琼脂糖凝胶电泳.

■研发前沿
关于Cat S在恶性肿瘤转移与复发中的作用是目前研究热点.

■相关报道

近年来的研究表明, *Cat S* 基因的高表达在恶性肿瘤的浸润转移过程中起重要作用。先后有文献报道, *Cat S* 高表达或活性升高与前列腺癌、星型细胞瘤、肺癌和胃癌等多种肿瘤的侵袭转移密切相关。

表 1 *Cat S* mRNA及蛋白表达的条带灰度分析比值 ($n = 62$, mean \pm SD)

分组	<i>Cat S</i> mRNA	<i>Cat S</i> 蛋白
癌组织	0.67 ± 0.15^a	0.81 ± 0.16^a
癌旁组织	0.28 ± 0.12	0.35 ± 0.13

^a $P < 0.05$ vs 癌旁组织; *Cat S*: 组织蛋白酶S。

表 2 各组患者血清*Cat S*表达水平($\mu\text{g/L}$)比较 (n , mean \pm SD)

分组	n	<i>Cat S</i>
正常对照组	30	50.2 ± 17.41
肝硬化组	40	64.28 ± 12.71^a
HCC组	62	131.46 ± 42.16^{ac}
术后1 mo组	57	67.25 ± 14.78^{ace}
术后6 mo组	41	72.42 ± 12.50^{aceg}
肿瘤复发组	13	160.18 ± 9.0^{acegi}

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^b $P < 0.05$ vs 肝硬化组; ^c $P < 0.05$ vs HCC组; ^d $P < 0.05$ vs 术后1 mo组; ^e $P < 0.05$ vs 术后6 mo组。 *Cat S*: 组织蛋白酶S; HCC: 肝细胞癌。

用凝胶成像分析系统进行电泳条带分析, 用目的条带灰度值与GAPDH条带灰度值的比值表示每个标本的相对mRNA水平。

1.2.2 Western blot检测*Cat S*蛋白表达: 采用RIPA(radio-immunoprecipitation assay)裂解液(碧云天, 中国)分别提取肝癌患者癌组织和癌旁组织总蛋白, 并采用BCA检测试剂盒(普利莱基因技术有限公司, 中国)测定蛋白浓度水平。每个样本取30 μg 蛋白经10%SDS-PAGE电泳, 转膜, 进行*Cat S*一抗(BioVision生物有限公司)、辣根过氧化物酶标记的二抗孵育和显色, 并照相。以目的蛋白与 β -肌动蛋白(β -actin)的灰度比进行半定量分析。

1.2.3 ELISA检测血清*Cat S*蛋白表达: 抽取清晨空腹静脉血3 mL, 置于EDTA抗凝的无菌试管中, 室温3500 r/min离心15 min, 收集上层血清, 置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存待测定。 *Cat S* ELISA试剂盒购自美国R&D公司, 严格按照试剂盒说明书进行操作。主要检测仪器为BIO-RAD680型酶联免疫检测仪, 于450 nm处测吸光度(A)值, 读取 A 值, 然后根据标准品应用Excel2007(微软公司)软件绘制标准曲线, 通过已知标准品浓度值计算样品浓度值。每一血浆样品测两次求平均值。

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计

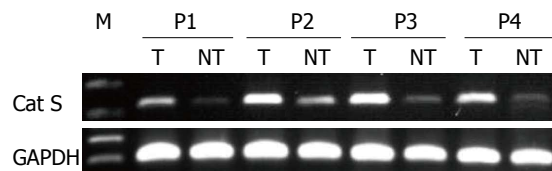


图 1 RT-PCR分析*Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中的表达。M: DL2000 DNA Marker; P1-P4: 肝癌患者; T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。 *Cat S*: 组织蛋白酶S; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

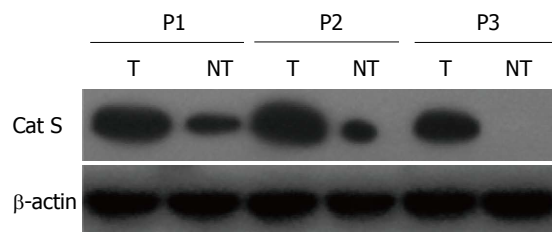


图 2 Western blot分析*Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中的表达。P1-P3: 肝癌患者; T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。 *Cat S*: 组织蛋白酶S; β -actin: β -肌动蛋白。

软件进行统计分析, 计量资料采用mean \pm SD表示, 组间定量资料比较采用 t 检验和方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *Cat S*在肝癌及其对应癌旁组织中mRNA及蛋白的表达 *Cat S* mRNA及蛋白在肝癌组织中均呈高表达, 而在对应的癌旁组织中低表达, 其表达量的相对值分别为 0.28 ± 0.12 、 0.35 ± 0.13 , 显著低于肝癌组织中 0.67 ± 0.15 、 0.81 ± 0.16 , 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)(表1, 图1-3)。

2.2 各组人员血清*Cat S*表达水平 肝癌组患者血清*Cat S*含量明显高于肝硬化组和正常对照组($131.46 \mu\text{g/L} \pm 42.16 \mu\text{g/L}$ vs $64.28 \mu\text{g/L} \pm 12.71 \mu\text{g/L}$ 、 $50.2 \mu\text{g/L} \pm 17.41 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$); 术后1 mo组, 术后6 mo组血清*Cat S*含量均明显低于术前(肝癌组)($P < 0.05$); 肿瘤复发组血清*Cat S*含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组、肝硬化组和健康对照组($P < 0.05$)(表2)。

2.3 HCC患者血清*Cat S*表达水平变化与肿瘤病理特征的关系 HCC患者血清*Cat S*含量与HCC门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均显著相关($P < 0.05$), 与HBsAg和肿瘤分化程度无关($P > 0.05$)(表3)。

3 讨论

HCC以其高发病率, 高复发率及高死亡率, “三

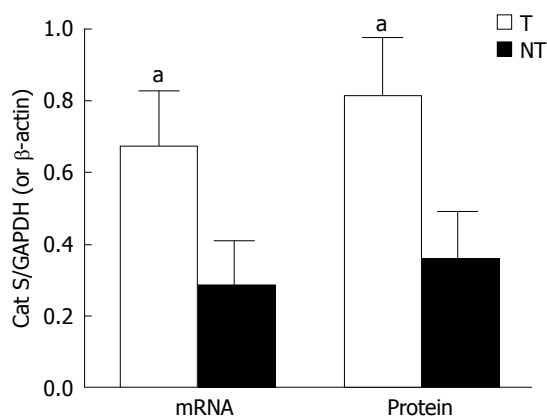


图3 Cat S mRNA及蛋白表达的条带灰度分析比较。^a $P<0.05$ vs 癌旁组织。T: 肝癌组织; NT: 癌旁组织。Cat S: 组织蛋白酶S; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶, RT-PCR内参; β -actin: β -肌动蛋白, Western blot内参。

高”著称,其5年生存率低下^[2]。目前对于HCC的治疗,肝移植及手术切除是有效的治疗方法^[11]。经皮微波或射频等消融治疗及经导管肝动脉化疗栓塞治疗为失去手术机会的患者提供有效的治疗方法,在一定程度上达到了与外科手术切除相媲美的治疗效果^[12,13]。但大部分HCC患者在明确诊断时已经是中晚期肝癌,失去了手术切除及其他根治性手术的机会;如何尽早判断肝癌的病情并预测其转移和复发是肝癌防治研究工作的重点。肿瘤的发生、发展、侵袭、转移都离不开新生血管的生成,新近发现的Cat S在肿瘤血管的生成和血管内外肿瘤细胞的转移过程中发挥着重要作用。

Cat S属半胱氨酸蛋白水解酶,主要分布在脾脏、淋巴结、心脏、抗原递呈细胞。Cat S在免疫应答中可能扮演重要角色,还能够参与血管基质重塑和动脉粥样硬化内膜的形成^[14]。Cat S能够降解细胞外基质分子,参与肿瘤血管生成和血管内外肿瘤细胞的转移。近年来发现,多种肿瘤如前列腺癌、星形细胞瘤、胰腺癌、肺癌^[15]、胃癌^[16]、尤其是肝癌组织中均有Cat S的高表达,且其高表达促进肿瘤细胞的侵袭、转移。Wang等^[17]对鼠胰岛细胞瘤模型的研究中发现人为敲除Cat S将减少血管生成和肿瘤细胞增殖,从而抑制实体瘤的进展。Ryschich等^[3]发现Cat S可能参与肝细胞癌新生血管的形成。Fan等^[9]研究发现Cat S在MHCC97-H肝癌细胞系呈高表达,利用RNA干扰技术敲除Cat S,可显著抑制MHCC97-H细胞的增殖,侵袭和血管生成。Cat S的过度表达一方面通过增加ECM内的生长因子的生物利用度促进肿瘤增长,另一方面直接提

表3 HCC患者临床病理特点与血清Cat S表达水平($\mu\text{g/L}$)的关系(n , mean \pm SD)

分类	n	Cat S	P 值
HBsAg			0.676
阴性	15	136.43 \pm 32.24	
阳性	47	130.73 \pm 49.15	
门静脉癌栓			0.018
无	35	120.23 \pm 45.58	
有	27	147.50 \pm 41.16	
肝外转移			0.035
无	51	126.49 \pm 46.37	
有	11	158.15 \pm 30.74	
TNM分期			0.001
I-II	27	106.59 \pm 33.21	
III-IV	35	150.65 \pm 38.42	
分化程度			0.987
高分化	21	130.25 \pm 49.36	
中分化	31	132.03 \pm 33.05	
低分化	10	130.35 \pm 51.66	
肿瘤直径(cm)			0.004
<5	24	111.77 \pm 39.04	
≥ 5	38	144.95 \pm 44.96	

Cat S: 组织蛋白酶S。

高ECM组分的降解,结果促进肿瘤细胞侵袭、转移形成继发性肿瘤^[18]。

我们采用RT-PCR及Western blot法检测了62例HCC及其对应的癌旁非癌组织中Cat S基因的表达式,发现在HCC组织中Cat S基因的表达明显高于对应的癌旁非癌组织($P<0.05$)。本研究结果还发现肝癌组患者血清Cat S含量明显高于肝硬化组和正常对照组($P<0.05$),肿瘤复发组血清Cat S含量明显高于术后1 mo组、术后6 mo组($P<0.05$),提示检测血清Cat S含量有助于HCC的早期筛选及复查。HCC患者血清Cat S含量与HCC门静脉癌栓的形成、肿瘤大小、肝外转移、TNM分期均呈显著相关($P<0.05$),提示检测血清Cat S含量的高低有助于了解HCC的发生发展、判断HCC患者的病情及预后。血清Cat S含量越高说明病情越重,其预后不良。因此推测肝癌的发生发展与血清Cat S水平有关,Cat S可能参与肝癌的发病过程,并可能通过降解细胞外基质作用,促进肝细胞癌血管生成和血管内外癌细胞的转移。

本研究结果显示血清Cat S有可能成为一种新的具有临床应用价值的肿瘤标志物,有助于肝癌的诊断、预后预测及术后复发的监测。血

■创新盘点

本研究采用RT-PCR及Western blot方法检测Cat S在HCC中的表达,同时检测肝癌患者血清Cat S表达水平,分析血清Cat S水平与肝癌临床病理的关系及对预后的临床意义,为肝细胞癌的诊疗、治疗及预后预测提供新的策略。

■同行评价

本文较为新颖, 具有一定指导意义.

清Cat S含量检测方法简单, 易于推广普及. 本研究尚需进一步扩大研究病例数, 延长术后随访时间, 以探讨其临床诊断与评价的科学量化范围. 随着对Cathepsin S研究的深入, 将会对其在肿瘤发生发展过程中的分子作用机制有更全面、更透彻的认识, 并为肿瘤的治疗提供新的策略.

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461 DOI: 10.3322/caac.20121]
- Ryschich E, Lizdenis P, Ittrich C, Benner A, Stahl S, Hamann A, Schmidt J, Knolle P, Arnold B, Hämmelring GJ, Ganss R. Molecular fingerprinting and autocrine growth regulation of endothelial cells in a murine model of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 198-211 [PMID: 16397233 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1636]
- Katunuma N. Structure-based development of specific inhibitors for individual cathepsins and their medical applications. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 29-39 [PMID: 21321479 DOI: 10.2183/pjab.87.29]
- Shi GP, Sukhova GK, Kuzuya M, Ye Q, Du J, Zhang Y, Pan JH, Lu ML, Cheng XW, Iguchi A, Perrey S, Lee AM, Chapman HA, Libby P. Deficiency of the cysteine protease cathepsin S impairs microvessel growth. *Circ Res* 2003; 92: 493-500 [PMID: 12600886]
- Lindahl C, Simonsson M, Bergh A, Thysell E, Antti H, Sund M, Wikström P. Increased levels of macrophage-secreted cathepsin S during prostate cancer progression in TRAMP mice and patients. *Cancer Genomics Proteomics* 2009; 6: 149-159 [PMID: 19487544]
- Flannery T, Gibson D, Mirakhur M, McQuaid S, Greenan C, Trimble A, Walker B, McCormick D, Johnston PG. The clinical significance of cathepsin S expression in human astrocytomas. *Am J Pathol* 2003; 163: 175-182 [PMID: 12819022 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63641-3]
- Söderström M, Ekfors T, Böhling T, Aho A, Aro HT, Vuorio E. Cysteine proteinases in chondrosarcomas. *Matrix Biol* 2001; 19: 717-725 [PMID: 11223331 DOI: 10.1016/S0945-053X(00)00124-4]
- Fan Q, Wang X, Zhang H, Li C, Fan J, Xu J. Silencing cathepsin S gene expression inhibits growth, invasion and angiogenesis of human hepatocellular carcinoma in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 703-710 [PMID: 22796222 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.013]
- Jobs E, Ingelsson E, Risérus U, Nerpin E, Jobs M, Sundström J, Basu S, Larsson A, Lind L, Årnlöv J. Association between serum cathepsin S and mortality in older adults. *JAMA* 2011; 306: 1113-1121 [PMID: 21878432 DOI: 10.1001/jama.2011.1246]
- Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1312-1327 [PMID: 18821591 DOI: 10.1002/hep.22506]
- Liang P, Yu J, Yu XL, Wang XH, Wei Q, Yu SY, Li HX, Sun HT, Zhang ZX, Liu HC, Cheng ZG, Han ZY. Percutaneous cooled-tip microwave ablation under ultrasound guidance for primary liver cancer: a multicentre analysis of 1363 treatment-naïve lesions in 1007 patients in China. *Gut* 2012; 61: 1100-1101 [PMID: 21997552 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300975]
- Wang ZJ, Wang MQ, Duan F, Song P, Liu FY, Chang ZF, Wang Y, Yan JY, Li K. Transcatheter arterial chemoembolization followed by immediate radiofrequency ablation for large solitary hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4192-4199 [PMID: 23864783 DOI: 10.3748/wjg.v19.i26.4192]
- 李东, 徐静. Cathepsin S的表达与消化系统肿瘤的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2980-2983
- Kos J, Sekirnik A, Kopitar G, Cimerman N, Kayser K, Stremmer A, Fiehn W, Werle B. Cathepsin S in tumours, regional lymph nodes and sera of patients with lung cancer: relation to prognosis. *Br J Cancer* 2001; 85: 1193-1200 [PMID: 11710834]
- Yang Y, Lim SK, Choong LY, Lee H, Chen Y, Chong PK, Ashktorab H, Wang TT, Salto-Tellez M, Yeoh KG, Lim YP. Cathepsin S mediates gastric cancer cell migration and invasion via a putative network of metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2010; 9: 4767-4778 [PMID: 20812763 DOI: 10.1021/pr100492x]
- Wang B, Sun J, Kitamoto S, Yang M, Grubb A, Chapman HA, Kalluri R, Shi GP. Cathepsin S controls angiogenesis and tumor growth via matrix-derived angiogenic factors. *J Biol Chem* 2006; 281: 6020-6029 [PMID: 16365041 DOI: 10.1074/jbc.M509134200]
- Flannery T, McQuaid S, McGoohan C, McConnell RS, McGregor G, Mirakhur M, Hamilton P, Diamond J, Cran G, Walker B, Scott C, Martin L, Ellison D, Patel C, Nicholson C, Mendelow D, McCormick D, Johnston PG. Cathepsin S expression: An independent prognostic factor in glioblastoma tumours-A pilot study. *Int J Cancer* 2006; 119: 854-860 [PMID: 16550604 DOI: 10.1002/ijc.21911]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系

付雪丹, 刘彦丽

付雪丹, 刘彦丽, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科B超室, 黑龙江省大庆市 163453

付雪丹, 硕士, 副主任医师, 主要从事腹部器官超声诊断的研究。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由付雪丹完成; 研究过程与数据分析由刘彦丽完成。

通讯作者: 付雪丹, 副主任医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科B超室. 1487225196@qq.com

电话: 0459-5910872

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-11-28

Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation

Xue-Dan Fu, Yan-Li Liu

Xue-Dan Fu, Yan-Li Liu, Ultrasound Room, Department of Physical Diagnosis, the Fifth Affiliated Hospital (Daqing Longnan Hospital) of Qiqihar Medical College, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Xue-Dan Fu, Associate Chief Physician, the Fifth Affiliated Hospital (Daqing Longnan Hospital) of Qiqihar Medical College, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. 1487225196@qq.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation (PRFA).

METHODS: Thirty-six patients with unresectable hepatocellular carcinoma who undersent ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation were selected. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), albumin (ALB), and alpha fetal protein (AFP) as well as

imaging findings were retrospectively analyzed (1 day before, 7, 14 and 28 d after PRFA).

RESULTS: The levels of ALT and AST were significantly higher on day 7 after PRFA than on day 1 before PRFA ($102.21 \text{ U/L} \pm 53.41 \text{ U/L}$ vs $55.34 \text{ U/L} \pm 36.57 \text{ U/L}$, $90.58 \text{ U/L} \pm 37.22 \text{ U/L}$ vs $65.77 \text{ U/L} \pm 40.29 \text{ U/L}$), and they decreased to preoperative levels on day 14. Patients with an AFP level decreased by $\geq 50\%$ on day 28 showed complete ablation of the tumors on magnetic resonance imaging (MRI) and high echo area with liquefaction and no blood flow in the center of the lesions on ultrasound. Patients with elevated AFP values showed incomplete ablation of the tumors on MRI and incomplete high echo area with blood flow on ultrasound. The effective rate of PRFA was higher than 60% when the levels of AFP were used as evaluation criterion. The 3-year survival rate was 68%. The median survival time was 38.09 mo.

CONCLUSION: The imaging findings can well reflect the changes of serum markers and recurrence in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation. Imaging examinations can be used as an effective approach for the detection of recurrence of hepatocellular carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ultrasound guidance; Percutaneous radiofrequency ablation; Hepatocellular carcinoma

Fu XD, Liu YL. Relationship between postoperative imaging findings and therapeutic effect in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after ultrasound-guided percutaneous radiofrequency ablation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3747-3751 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3747>

摘要

目的: 探讨射频消融术(percutaneous radiofrequency ablation, PRFA)后超声影像学表现与生

■背景资料

原发性肝癌是严重威胁人类健康的癌症之一, 居世界恶性肿瘤发病率的第6位。我国是乙型肝炎大国, 原发性肝癌一直是困扰我国公民的健康问题。手术治疗是肝癌最有效的治疗方式, 但受肿瘤大小、位置、肝功能等影响, 只有极少部分患者能够接受手术治疗。而超声引导下经皮射频消融术(percutaneous radiofrequency ablation, PRFA)治疗因其操作简单, 安全性高等优点越来越被临床医生及患者所接受。但目前就PRFA术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系的报道并不多见。

■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

■相关报道

据报道,射频消融术后肿瘤血管的生成受到抑制,肿瘤细胞的凋亡加快,同时机体的细胞免疫功能加强,从而提高抗肿瘤的免疫力。

化指标、复发率的关系。

方法:选取PRFA患者36例,分析并比较其术前、术后7、14、28 d的谷丙转氨酶(alanine aminotrans-ferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotrans-ferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)水平及超声和核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)的影像学表现。

结果:PRFA患者术后7 d ALT、AST均较术前明显升高($102.21 \text{ U/L} \pm 53.41 \text{ U/L}$ vs $55.34 \text{ U/L} \pm 36.57 \text{ U/L}$, $90.58 \text{ U/L} \pm 37.22 \text{ U/L}$ vs $65.77 \text{ U/L} \pm 40.29 \text{ U/L}$), 14 d后降至术前水平。血清AFP值转阴及AFP值下降 $\geq 50\%$ 者同期MRI显示肿瘤完全消融,超声显示病灶回声增强,病灶出现中央液化,内部无血流。血清AFP值升高者同期MRI显示肿瘤不完全消融,超声显示病灶部分回声增强,内见点状血流。以肿瘤标志物AFP水平为参考指标,PRFA的有效率 $\geq 60\%$ 。PRFA患者的术后3年生存率68%,中位生存时间38.09 mo。

结论:PRFA术后患者影像学表现与生化指标、肿瘤复发相一致。影像检查可作为检测肿瘤复发的一种有效手段。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声引导; 射频消融; 肝癌

核心提示: 本文对36例患者进行回顾性研究,以期探讨非手术适应症肝癌患者术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系,以便于患者及医务工作者重视术后影像学改变并积极采取措施,从而降低复发率,提高生存率。

付雪丹, 刘彦丽. 超声引导下PRFA治疗非手术适应症肝癌术后的肿瘤影像表现与疗效的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3747-3751 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3747>

0 引言

原发性肝癌是严重威胁人类健康的癌症之一,居世界恶性肿瘤发病率的第6位^[1]。我国是乙型肝炎大国,原发性肝癌一直是困扰我国公民的健康问题^[2]。手术治疗是肝癌最有效的治疗方式,但受肿瘤大小、位置、肝功能等影响,只有极少部分患者能够接受手术治疗。而超声引导下经皮射频消融术(percutaneous radiofrequency

ablation, PRFA)治疗因其操作简单,安全性高等优点越来越被临床医生及患者所接受^[3]。但目前就PRFA术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系的报道并不多见。本文对36例患者进行回顾性研究,以期探讨非手术适应症肝癌患者术后影像学表现与生化指标以及复发率的关系,以便于患者及医务工作者重视术后影像学改变并积极采取措施,从而降低复发率,提高生存率。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-01/2011-01行PRFA的患者36例,其中男性22例,女性14例,年龄范围44-61岁,平均年龄为46.1岁 ± 11.2 岁。所有患者的诊断均经病理学证实,且为首次诊断。入选标准: (1)肝功能Child A级; (2)肿瘤最大直径 $\leq 3 \text{ cm}$, 肝内病灶个数 ≤ 3 ; (3)无血管、胆管侵犯,无癌栓、腹腔淋巴结及远处转移; (4)未经化疗、放疗等其他治疗。所有患者或家属均签署知情同意书。Logiq-S6超声诊断仪(探头频率3.5 MHz, 美国GE公司)和RF2000型射频消融仪(射频针为Leveen针, 美国RadioTheraPeutics公司)。

1.2 方法

1.2.1 影像检查: 根据进针部位患者采取仰卧位或左侧卧位,消毒、铺无菌洞巾,以2%利多卡因局部麻醉至肝被膜下,部分患者采用持续硬膜外麻醉。电极贴于患者腰背部,在超声引导下将电极针插入肿瘤深处并开始消融,功率从20 W开始,每分钟调高10 W,直至最高能量90 W。对肿瘤较大者应多方位、多点、多针、多角度反复治疗,以保证消融范围达到整个瘤灶。

1.2.2 定期复查: (1)术后7、14、28 d复查肝功能指标: 谷丙转氨酶(alanine aminotrans-ferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotrans-ferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、彩色超声、核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)结合肿瘤标志物甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)水平判断疗效,认为AFP转阴或下降 $\geq 50\%$ 为有效; (2)每1 mo复查肝功能、AFP、彩色超声; (3)每3 mo、6 mo复查超声或MRI 1次。

1.2.3 随访: 通过电话回访或门诊复查等方式进行随访,获得患者生存状态和死亡时间,了解与射频消融治疗的近期和远期疗效。生存时间: 自射频治疗日开始至死亡日、失访日或随访结束日(2013-05-31)止,以月计算。

统计学处理 所有数据结果均采用SPSS17.0

表 1 射频消融术后肝功能指标的变化 (mean ± SD)

	术前1 d	术后7 d	术后14 d	术后28 d
ALT(U/L)	55.34 ± 36.57	102.21 ± 53.41 ^a	52.47 ± 40.18 ^a	46.11 ± 29.56 ^a
AST(U/L)	65.77 ± 40.29	90.58 ± 37.22 ^a	50.37 ± 28.57 ^a	46.76 ± 30.33 ^a
TBIL(μmol/L)	23.38 ± 9.27	25.15 ± 9.33 ^b	24.83 ± 8.26 ^b	23.45 ± 5.12
ALB(g/L)	38.45 ± 6.28	33.56 ± 4.34 ^a	30.42 ± 3.48 ^a	30.25 ± 3.82 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 术前1 d. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素; ALB: 白蛋白.

表 2 术前AFP阳性患者射频消融术后AFP的变化 ($n = 30$, $n(\%)$)

术后7 d				术后14 d				术后28 d			
阴性	下降 $\geq 50\%$	下降 $< 50\%$	上升	阴性	下降 $\geq 50\%$	下降 $< 50\%$	上升	阴性	下降 $\geq 50\%$	下降 $< 50\%$	上升
3(10)	16(53.33)	8(26.67)	3(10)	3(10)	16(59.26)	8(25.00)	3(13.89)	3(10)	15(50)	8(26.67)	4(13.33)

AFP: 甲胎蛋白.

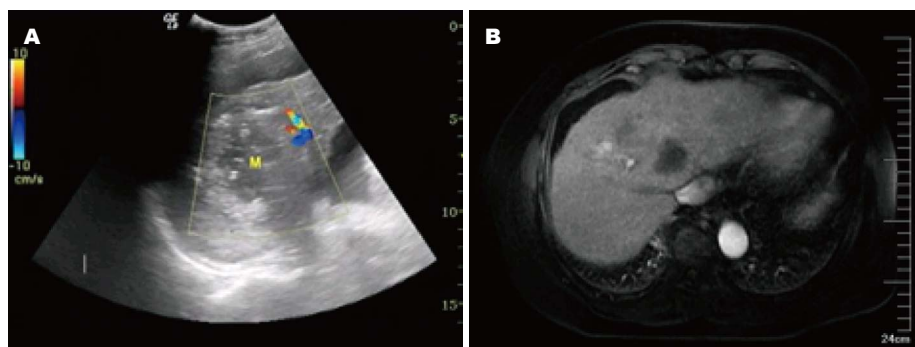


图 1 AFP转阴、AFP下降 $\geq 50\%$ 者及AFP值升高患者的影像学表现. A: MRI显示AFP值升高患者的肿瘤不完全消融. B: 超声显示AFP值升高患者的病灶部分回声增强, 内可见血流信号.

统计软件处理, 计量资料采用 t 检验或方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 射频消融术后患者功能指标的变化 射频消融术后7 d, ALT及AST水平均上升, 术后14 d显著下降, 甚至低于术前水平, 至术后28 d降至最低点. ALB水平术后7 d低于术前水平, 术后14 d进一步下降, 术后28 d与术后14 d的水平相差无几. 而TBIL水平在术前、术后均无明显改变. 射频消融术后肝功能各指标的具体变化值如表1.

2.2 PRFA治疗后1 mo肝癌患者血清AFP值的变化与消融程度及影像学表现的关系 超声引导下PRFA的36例患者中6例患者术前术后血清AFP值阴性($< 10.9 \mu\text{g/L}$), 术前血清AFP值阳性30例. 术后1 mo复查, 血清AFP值转阴性3例, 占10%(3/30), 血清AFP值下降 $\geq 50\%$ 者15例, 占

50%(15/30), 总有效率60%(18/30), 同期MRI显示肿瘤完全消融, 超声显示病灶回声增强, 其中15个病灶出现中央液化, 内部无血流. 另外有8例患者的血清AFP值下降 $< 50\%$, 占26.67%(8/30), 同期MRI显示肿瘤完全消融, 超声显示病灶回声增强, 中央无液化, 病灶内部无血流. 有4例患者的血清AFP值有所升高, 占13.33%(4/30), 同期MRI显示1例肿瘤完全消融, 3例肿瘤不完全消融(图1A), 超声显示病灶部分回声增强, 2个病灶内见条状血流信号(图1B), 其余未见血流信号. 术后7、14、28 d AFP水平的变化如表2.

2.3 PRFA治疗后患者生存率的比较 超声引导下PRFA的36例患者随访至2013-05-31, 随访时间28-52 mo. 36例患者至随访期结束共失访1例, 失访率0.28%(1/36), 存活24例, 死于肝癌复发10例, 死于其他疾病1例. 值得注意的是: 死亡的10例患者中, 4例来自于AFP(28 d时)上升的患者, 5例来

■应用要点

超声引导下PRFA治疗原发性肝癌, 对肝脏损伤小、安全性高, 术后疗效显著, 具有较高的临床应用价值. 术后应定期复查, 重视影像学表现, 早期发现其异常变化并及时采取积极措施以提高患者的生存率.

■同行评价

本文选题实用, 设计合理, 结果可靠, 具有很好的参考价值。

自于AFP值下降<50%的患者, 1例来自于AFP值下降 \geq 50%的患者。1、2、3、4年生存率分别为85%、74%、68%、61%。中位生存时间38.09 mo。

3 讨论

原发性肝癌是严重威胁我国公民健康的肿瘤之一, 统计表明, 其死亡率位居我国肿瘤相关死亡率的第2位, 每年约有13万人丧命于此^[4,5]。肝癌发病隐匿, 确诊后的积极治疗对患者的生存至关重要。由于传统的手术治疗方式受到诸多限制, 越来越多的临床医生及患者将目光转移至微创治疗。随着医学影像技术的快速发展和微创器械及技术的不断改进, 以PRFA治疗为代表的微创治疗已成为治疗肝癌的有效方法之一^[6,7]。经证实, PRFA安全有效并可获得与传统手术相似的远期生存率^[8,9]。PRFA利用超声设备引导电极针经皮插入肿瘤, 通过射频波激发周围组织内的离子、水、蛋白质等产生振动、摩擦并产热, 使局部组织形成凝固性坏死和变性, 从而凝固肿瘤组织, 导致肿瘤坏死^[10,11]。据报道, 射频消融术后肿瘤血管的生成受到抑制, 肿瘤细胞的凋亡加快, 同时机体的细胞免疫功能加强, 从而提高了抗肿瘤的免疫力^[11,12]。

本研究发现射频消融术后7 d ALT及AST水平显著上升, 经保肝治疗后术后14 d下降至低于术前水平, 至术后28 d降至最低点; ALB水平术后7 d低于术前水平, 但在术后14 d及术后28 d均未见明显下降, 与文献报道相符^[13]。其原因可能为射频消融使得肝癌细胞及其周围肝细胞凋亡, 细胞内转氨酶释放入血, 引起ALT、AST升高^[14], 但是经保肝治疗后, 术后14 d相关指标均恢复至术前水平。因此我们认为PRFA治疗肝癌的方式是值得推荐的。AFP水平是评价肿瘤复发的特异性指标之一^[15]。以AFP水平为参考, 发现本研究结果显示射频消融术的有效率>60%。大部分患者PRFA治疗后AFP水平有所下降, 影像学检查显示肿瘤组织坏死样变, 且病变的影像学表现与AFP水平变化相符。提示影像学检查可作为一种监测肿瘤复发的有效手段, 如果在复查时发现病灶出现不完全消融、仅部分强化或者有血流信号, 应警惕肿瘤复发的可能, 并进一步采取积极措施以提高其生存率。

总之, 超声引导下PRFA治疗原发性肝癌, 对肝脏损伤小、安全性高, 术后疗效显著, 具有较高的临床应用价值。术后应定期复查, 重视影像学表现, 早期发现其异常变化并及时采取积极

措施以提高患者的生存率。

4 参考文献

- 1 Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Sato T, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Yoshida H, Omata M, Koike K. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: 10-year outcome and prognostic factors. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 569-577; quiz 578 [PMID: 22158026 DOI: 10.1038/ajg.2011.425]
- 2 陈敏华. 重视影像指导规范化射频消融提高肝癌疗效. *中华医学杂志* 2007; 87: 1377-1379
- 3 Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Yoo BC, Paik SW, Joh JW, Park CK. Percutaneous radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy: long-term results and prognostic factors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2319-2329 [PMID: 17522947 DOI: 10.1245/s10434-006-9220-8]
- 4 Parisi A, Desiderio J, Trastulli S, Castellani E, Pasquale R, Ciocchi R, Boselli C, Noya G. Liver resection versus radiofrequency ablation in the treatment of cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 270-277 [PMID: 23742772 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60044-2]
- 5 Solbiati L, Ahmed M, Cova L, Ierace T, Brioschi M, Goldberg SN. Small liver colorectal metastases treated with percutaneous radiofrequency ablation: local response rate and long-term survival with up to 10-year follow-up. *Radiology* 2012; 265: 958-968 [PMID: 23091175 DOI: 10.1148/radiol.12111851]
- 6 Chen MS, Li JQ, Zheng Y, Guo RP, Liang HH, Zhang YQ, Lin XJ, Lau WY. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 321-328 [PMID: 16495695 DOI: 10.1097/01.sla.0000201480.65519.b8]
- 7 Min JH, Lee MW, Rhim H, Choi D, Kim YS, Kim YJ, Cha DI, Lim HK. Radiofrequency ablation for viable hepatocellular carcinoma around retained iodized oil after transcatheter arterial chemoembolization: usefulness of biplane fluoroscopy plus ultrasound guidance. *Korean J Radiol* 2012; 13: 784-794 [PMID: 23118578 DOI: 10.3348/kjr.2012.13.6.784]
- 8 Peng ZW, Liang HH, Chen MS, Zhang YJ, Zhang YQ, Lau WY. Conformal radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma with a multi-pin bipolar system. *J Surg Oncol* 2011; 103: 69-74 [PMID: 21031425 DOI: 10.1002/jso.21742]
- 9 Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer* 2005; 103: 1201-1209 [PMID: 15690326 DOI: 10.1002/cncr.20892]
- 10 Amersi FF, McElrath-Garza A, Ahmad A, Zogakis T, Allegra DP, Krasne R, Bilchik AJ. Long-term survival after radiofrequency ablation of complex unresectable liver tumors. *Arch Surg* 2006; 141: 581-587; discussion 581-587 [PMID: 16785359 DOI: 10.1001/archsurg.141.6.581]
- 11 黄伍奎, 帕哈尔丁·白克热, 樊喜文, 刘墨, 顾朋, 王萍菊, 王海宁, 杨树法. 多点射频消融治疗肝癌的肝功能与并发症相关性分析. *中国现代医学杂志* 2012; 22: 67-71
- 12 Kim JH, Kim PN, Won HJ, Shin YM. Percutaneous radiofrequency ablation using internally cooled wet

- electrodes for the treatment of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 198: 471-476 [PMID: 22268196 DOI: 10.2214/AJR.11.6583]
- 13 Minami Y, Kudo M. Review of dynamic contrast-enhanced ultrasound guidance in ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4952-4959 [PMID: 22174544 DOI: 10.3748/wjg.v17.i45.4952]
- 14 Asahina Y, Nakanishi H, Izumi N. Laparoscopic radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Dig Endosc* 2009; 21: 67-72 [PMID: 19691776 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2009.00844.x]
- 15 Ohmoto K, Yoshioka N, Tomiyama Y, Shibata N, Kawase T, Yoshida K, Kuboki M, Yamamoto S. Use of intra-arterial carbon-dioxide-enhanced ultrasonography for guidance of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2006; 29: 1111-1113 [PMID: 16933161 DOI: 10.1007/s00270-005-0285-8]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第 3 套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系

李昱骥, 隋远达, 孔凡民

■背景资料

随着对Livin和Caspase3的发现及相关研究的进一步深入, 大家越来越重视二者在许多肿瘤的发生、发展、预后中的相关性, 愈来愈多的实验围绕着二者的表达与关系进行研究。

李昱骥, 隋远达, 孔凡民, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科病区 辽宁省沈阳市 110001

李昱骥, 2011年中国医科大学博士, 副教授, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由李昱骥、隋远达及孔凡民共同设计; 实验试剂由孔凡民提供; 研究过程与数据分析由李昱骥与隋远达完成; 论文由李昱骥完成。

通讯作者: 孔凡民, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街153号, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胃肠外科病区. liyuji74@163.com

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-09-14 修回日期: 2013-10-17

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-11-28

Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma

Yu-Ji Li, Yuan-Da Sui, Fan-Min Kong

Yu-Ji Li, Yuan-Da Sui, Fan-Min Kong, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Fan-Min Kong, Professor, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, 153 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. liyuji74@163.com

Received: 2013-09-14 Revised: 2013-10-17

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To detect the expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma and to explore their association with the biological behavior of cholangiocarcinoma.

METHODS: Fifty-six surgical cholangiocarcinoma specimens and 29 tumor-adjacent biliary tissue specimens collected from 2002 to 2008 at the First Hospital of China Medical University were used in this study. The expression of Livin and Caspase3 in the above specimens was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rate of Livin expression in cholangiocarcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent biliary tissues

(58.93% vs 0%, $\chi^2 = 26.094$, $P < 0.05$), whereas the positive rate of Caspase3 in cholangiocarcinoma was significantly lower than that in tumor-adjacent biliary tissues (29% vs 88.98%, $\chi^2 = 14.01$, $P < 0.05$). The expression of Livin and Caspase3 was significantly correlated with tumor differentiation in cholangiocarcinoma (both $P < 0.05$). The expression of Livin was negatively related to that of Caspase3 in cholangiocarcinoma ($r = -0.295$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The positive expression rate of Livin protein is higher and that of Caspase3 is lower in cholangiocarcinoma than in tumor-adjacent biliary tissues. Livin expression was negatively related to Caspase3 expression, and Livin and Caspase3 protein expression in cholangiocarcinoma was significantly correlated with tumor differentiation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Immunohistochemistry; Livin; Caspase3

Li YJ, Sui YD, Kong FM. Clinical significance of expression of Livin and Caspase3 in cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3752-3756
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3752.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3752>

摘要

目的: 研究凋亡抑制蛋白Livin和半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3(Caspase3)在胆管癌中的表达, 探讨其表达情况与胆管癌生物学行为的关系。

方法: 收集中国医科大学附属第一医院普通外科于2002-01/2008-12期间手术切除胆管癌的标本56例。对照组为27例正常胆管组织。用免疫组织化学法检测Livin和Caspase3的表达情况, 对结果应用SPSS13.0统计软件进行分析。

结果: 在56例胆管癌中Livin和Caspase3阳性

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

表达率分别为58.93%(33/56)和39.29%(22/56), 对照组27例表达为阴性和88.89%(24/27), 均有统计学意义($\chi^2 = 29.094$ 和 14.01 , $P < 0.05$); 依照胆管癌分化程度分组显示二者表达也有差异($P < 0.05$), 且二者在胆管癌中的表达呈负相关($r = -0.295$, $P < 0.05$).

结论: 在胆管癌组织中Livin蛋白表达高于癌旁组织, 而Caspase3表达低于癌旁组织; 二者的表达呈负相关且与肿瘤的分化程度有明显相关性.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆管癌; 免疫组织化学; Livin; Caspase3

核心提示: 在胆管癌组织中Livin蛋白表达高于癌旁组织, 而Caspase3表达低于癌旁组织, 二者的表达呈负相关且与肿瘤的分化程度有明显相关性.

李昱骥, 隋远达, 孔凡民. Livin和Caspase3在胆管癌中的表达及其与胆管癌生物学行为的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3752-3756 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3752.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3752>

0 引言

胆管癌临床起病隐匿, 早期诊断困难, 预后较差. 现代分子生物学研究表明, 凋亡调节紊乱是恶性肿瘤形成的重要机制之一. Livin是2000年发现的凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP), 与许多肿瘤的发生、发展、预后都有相关性^[1]. 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(cystenyl-aspartate-specific protease, Caspase)被证明与凋亡有关, 其中作为下游效应分子的Caspase3是整个凋亡级联反应的一个关键点^[2]. Livin和Caspase3在胆管癌中的表达关系相关报道较少报道, 本实验收集56例手术切除胆管癌标本, 应用免疫组织化学法检测二者在其中的表达情况, 分析二者与胆管癌发生发展的关系, 探讨胆管癌的发病机制和转移.

1 材料和方法

1.1 材料 胆管癌来源于中国医科大学附属第一医院普通外科于2002-01/2008-12间手术切除的56例标本(征得家属意见留存标本), 均经病理证实为腺癌. 其中男性34例, 女性22例; 高分化腺癌29例, 中分化腺癌13例, 低分化腺癌14例; 伴有淋巴结转移者31例, 无淋巴结转移者25例; 根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer

Control, UICC)颁布的TNM分期标准: I期12例, II期9例, III期27例, IV期8例. 全部患者无术前放、化疗记载. 对照组取自27例根治性切除手术的癌旁组织, 经病理证实未见癌细胞. 兔抗人Livin多克隆抗体、兔抗人Caspase3多克隆抗体、SABC试剂盒、DAB显色剂均由武汉博士德公司提供. 其他: 二甲苯、无水乙醇、苏木素、双氧水、中性树胶、枸橼酸缓冲液、PBS缓冲液等. FinZSe325切片机; 烤片机; 电热恒温干燥箱; 冰箱; 微量移液器和离心机; OLYMPUS光学显微镜.

1.2 方法 应用免疫组织化学实验(immunohistochemistry, IHC)检测胆管癌及癌旁组织标本中Livin和Caspase3蛋白的表达情况. 用随试剂赠送的阳性片作为阳性对照, 以PBS替代一抗作为阴性对照.

阳性判断标准以胞核或胞浆出现黄色或棕黄色颗粒为阳性, 在400倍光镜下, 随机选取3个视野, 每个视野观察100个细胞, 染色结果分为5级: 阳性细胞数 $<1\%$ 为0级, $1\%-24\%$ 为1级, $25\%-49\%$ 为2级, $50\%-74\%$ 为3级, $75\%-100\%$ 为4级; 设定0、1、2级为低表达, 3、4级为高表达.

统计学处理 统计学分析使用SPSS13.0统计软件, 采用 χ^2 检验及Spearman等级相关检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Livin在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达 Livin在56例胆管癌中阳性表达率为58.93%(33/56), 在27例癌旁胆管组织中表达皆为阴性, 有统计学差异(表1). 分别按照患者性别、胆管癌分化程度、淋巴结转移和TNM分期等不同临床病理参数来分类进行Livin阳性表达率的检测, 结果显示在胆管癌分化程度组中, 高、中、低分化组Livin的阳性表达率依次为37.93%(11/29)、76.92%(10/13)、85.71%(12/14), 有统计学差异, 而其余各分类未见统计学差异(表2).

2.2 Caspase3在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达 Caspase3在56例胆管癌中阳性表达率为39.29%(22/56), 在27例癌旁胆管组织中阳性表达率为88.89%(24/27), 有统计学差异(表3). 分别按照患者性别、胆管癌分化程度、淋巴结转移和TNM分期等不同临床病理参数来分类进行Caspase3阳性表达率的检测, 结果显示在胆管癌分化程度组中, 高、中、低分化组Caspase3的阳性表达率依次为58.62%(17/29)、

■ 研发前沿

尽管近年来对于Livin和Caspase3的研究文章较多, 但较少二者在胆管癌中相关表达的报道, 本实验填补了这方面的空白, 为探讨二者的相互机制提供了新的方向.

■相关报道

本文通过对不同胆管组织的染色,检测Livin和Caspase3的表达,通过对各自机制及相关性的探讨来对二者的表达与关系进行分析,为胆管癌的诊断提供了新的思路。

表 1 Livin在胆管癌及癌旁胆管组织中的表达

组织来源	Livin的表达		合计	阳性率(%)	χ^2 值	P值
	+	-				
胆管癌组织	33	23	56	58.93	26.094	0.000
癌旁胆管组织	0	27	27	0		

表 2 Livin在胆管癌组织中的表达与临床病理参数之间的关系

临床病理参数	n	Livin表达		阳性率(%)	χ^2 值	P值
		+	-			
性别					1.259	0.262
男	34	18	16	52.94		
女	22	15	7	68.18		
分化程度					10.793	0.004
高	29	11	18	37.93		
中	13	10	3	76.92		
低	14	12	2	85.71		
淋巴结转移					0.157	0.692
有	31	19	12	61.29		
无	25	14	11	56.00		
TNM分期					0.585	0.445
I、II	21	11	10	52.38		
III、IV	35	22	13	62.86		

30.77%(4/13)、7.14%(1/14),有统计学差异,而其余各分类未见统计学差异(表4)。

2.3 Livin及Caspase3在胆管癌组织中表达水平的相关性 将胆管癌中Livin及Caspase3表达阳性情况进行Spearman等级相关检验。发现在胆管癌组织中Livin与Caspase3的表达呈负相关关系($r = -0.295, P < 0.05$)(表5)。

3 讨论

胆管癌是起源于胆道上皮细胞的恶性肿瘤,占所有消化系肿瘤的3%,在常见的胆道肿瘤中排第2位。胆管癌临床起病隐匿,症状出现较晚,早期诊断困难,仅10%患者得到手术治疗。胆管癌患者术后5年生存率约5%,未切除胆管癌患者生存期<1年^[3]。为改善胆管癌的预后,人们把更多的目光投向分子生物学方面的研究,其中肿瘤细胞的凋亡是当前研究的热点之一。

细胞凋亡是由基因编码调控的细胞自动性自杀过程,又称程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)。现已证明,许多疾病尤其是肿瘤的发生、发展与细胞凋亡失衡有关。细胞凋亡功能受到抑制,则恶性肿瘤无限增殖,细胞凋亡受

抑制是肿瘤发病机制之一,参与肿瘤的发生、发展^[4]。IAP是一类重要的抗细胞因子,在目前已知的8个IAP家族成员中,Livin是研究较少的一个,对其抑制细胞凋亡的机制也尚未完全清楚。Yagihashi等^[5]研究发现,在胃癌、结肠癌、胰腺癌及肝细胞性肝癌中均检测到Livin mRNA的过度表达。国内报道^[6]也发现,Livin表达与肿瘤临床分期及患者年龄相关。

本实验结果显示,胆管癌组织中Livin蛋白阳性表达率为58.93%,而胆管癌旁组织中未见阳性表达,两者比较有显著差异($P < 0.05$)。Livin在胆管癌组织中有较高阳性表达提示其可能通过抑制胆管癌细胞凋亡而对胆管癌的发生、发展起抑制作用,故有望成为胆管癌诊断的肿瘤标志物。Livin蛋白阳性表达率与胆管癌患者的性别、TNM分期和淋巴结有无转移无关($P > 0.05$),而与患者的组织学分化程度有关($P < 0.05$)。提示Livin阳性表达有利于胆管癌恶性程度的判断,为预后估计提供帮助。

Caspase3属于半胱氨酸蛋白酶家族成员,1994年由Ferandez-Alnemri等从人的cDNA文库中克隆得到,1996年正式命名。多数Caspase都与细胞凋亡有关,Caspase3位于Caspase下游区,通常以无活性的酶原形式产生,可以被多种因素活化。活化的Caspase3执行效应子功能,在细胞凋亡中起着不可替代的作用,是细胞凋亡过程中最关键的终末剪切酶。他通过剪切多聚(ADP-核糖)聚合酶[poly (ADP-ribose) polymelase, PARP],裂解核小体间的DNA引起细胞凋亡。Caspase3介导的凋亡在人体多种细胞中普遍存在,与直肠癌、胃癌、肝癌、胆囊癌等多种肿瘤都有关系^[7]。

本实验结果显示胆管癌细胞中Caspase3蛋白的表达率为39.29%,明显低于癌旁胆管组织中的表达率,二者比较有显著差异($P < 0.05$),表明Caspase3的失表达与胆管癌的发生相关,提示其在胆管癌细胞的恶性转化及发生、发展中起重要作用。Caspase3蛋白表达在胆管癌高、中、低分化组织中依次下调,3组之间比较有显著差

表 3 Caspase3在胆管癌及癌旁组织中的表达

组织来源	Caspase3的表达		合计	阳性率(%)	χ^2 值	P值
	+	-				
胆管癌组织	22	34	56	39.29	17.924	0.000
癌旁正常组织	24	3	27	88.89		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

表 4 Caspase3在胆管癌组织中的表达与临床病理参数之间的关系

临床病理参数	n	Caspase3表达			χ^2 值	P值
		+	-	阳性率(%)		
性别					0.127	0.721
男	34	14	20	41.48		
女	22	8	14	36.36		
分化程度					10.808	0.004
高	29	17	12	58.62		
中	13	4	9	30.77		
低	14	1	13	7.14		
淋巴结转移					0.201	0.654
有	31	13	18	41.94		
无	25	9	16	36.00		
TNM分期					0.020	0.889
I、II	21	8	13	39.00		
III、IV	35	14	21	40.00		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

表 5 Livin和Caspase3在胆管癌组织中表达的相关性

Livin	Caspase3		合计	r值	P值
	+	-			
+	9	24	33	-0.295	0.028
-	13	10	23		
合计	22	34	56		

Caspase3: 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶3.

异($P<0.05$), 说明其与胆管癌的分化程度有关. 由于Caspase3是正常分化细胞所具有的成分, 而肿瘤在转化过程中容易失去某些正常细胞所具有的表型. 因此, 我们认为Caspase3在分化差的癌组织中表达下调是肿瘤异常分化所致, 参与了胆管癌的发生、发展.

目前已经证实, 在胃癌中Livin对Caspase3表达起抑制作用^[8-13], 本实验也在胆管癌中得到一致论断, 认为二者呈现负相关. 一般认为Livin主要是通过其杆状病毒IAP重复结构域(baculovi-

■创新盘点

本实验通过详实的数据与资料, 分析了Livin和Caspase3在胆管癌和非胆管癌组织中表达的异同, 总结规律, 为疾病的诊断提供新的方向.

rus iap repeat domain, BIR)区与Caspase结合并直接抑制, 尤其是抑制Caspase3的活性, 达到阻断凋亡受体及线粒体相关的凋亡途径, 而实现对细胞凋亡的抑制作用^[14-16]. 随着对Livin和Caspase3关系研究的进一步深入, Livin在恶性肿瘤诊断方面的作用会越来越受到重视.

4 参考文献

- 1 Ma L, Huang Y, Song Z, Feng S, Tian X, Du W, Qiu X, Heese K, Wu M. Livin promotes Smac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway. *Cell Death Differ* 2006; 13: 2079-2088 [PMID: 16729033 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401959]
- 2 Vucic D, Deshayes K, Ackerly H, Pisabarro MT, Kadhodayan S, Fairbrother WJ, Dixit VM. SMAC negatively regulates the anti-apoptotic activity of melanoma inhibitor of apoptosis (ML-IAP). *J Biol Chem* 2002; 277: 12275-12279 [PMID: 11801603 DOI: 10.1074/jbc.M112045200]
- 3 李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道. 胆管癌分子靶向治疗. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1171-1177
- 4 Kukhta VK, Marozkina NV, Sokolchik IG, Bogaturova EV. Molecular mechanisms of apoptosis. *Ukr Biokhim Zh* 2003; 75: 5-9 [PMID: 15143512]

■同行评价

Survivin是2000年发现的凋亡抑制蛋白,与许多肿瘤的发生、发展、预后都有相关性。Survivin和Caspase3在胆管癌中的表达关系相关报道较少报道,本实验具有一定的借鉴作用。

- 5 Yagihashi A, Asanuma K, Tsuji N, Torigoe T, Sato N, Hirata K, Watanabe N. Detection of anti-survivin antibody in gastrointestinal cancer patients. *Clin Chem* 2003; 49: 1206-1208 [PMID: 12816927 DOI: 10.1373/49.7.1206]
- 6 陈建华, 范钦和, 蔡勇. 乳腺癌中Survivin基因及蛋白表达与细胞凋亡、增殖关系. *临床与实验病理学杂志* 2007; 23: 549-552
- 7 Sun BH, Zhang J, Wang BJ, Zhao XP, Wang YK, Yu ZQ, Yang DL, Hao LJ. Analysis of in vivo patterns of caspase 3 gene expression in primary hepatocellular carcinoma and its relationship to p21(WAF1) expression and hepatic apoptosis. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 356-360 [PMID: 11819597]
- 8 王锴, 郁云龙, 刘阳阳, 李恩泽, 哈敏文, 朱志图. 蟾蜍毒素对人胃癌细胞凋亡的诱导机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 116-120
- 9 侯毅鞠, 李艳, 袁忠海, 郭素红. 凋亡抑制蛋白Survivin在胃癌及癌旁组织中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1196-1200
- 10 韩高雄, 蔡明, 王国斌, 陶凯雄, 蔡昌学. Survivin和Survivin基因联合靶向siRNA重组表达载体的构建和鉴定. *华中科技大学学报(医学版)* 2009; 38: 673-676
- 11 王琳琳, 郑洪, 唐薇薇, 厉国慧, 安文波. Survivin基因沉默对人恶性黑色素瘤A375细胞周期和凋亡的影响. *肿瘤* 2009; 29: 345-349
- 12 陈鹏, 王春松, 孔令斌, 杨景玉. siRNA沉默Survivin基因对胃癌细胞生长、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1346-1349
- 13 杜媛, 冯一中, 李峰. Survivin在胰腺癌组织芯片中的表达及其临床意义. *苏州大学学报(医学版)* 2008; 28: 244-246
- 14 杨春鹿, 黄青远, 赵君, 陈东义, 张林. Survivin蛋白在食管癌中的表达及与p53蛋白相关性研究. *现代肿瘤医学* 2007; 15: 632-634
- 15 程平, 秦蓉, 张红, 吴继锋, 王道斌. 凋亡抑制因子Survivin和Survivin在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 850-855
- 16 唐鹏, 黄华. 凋亡抑制蛋白家族在食管癌分子靶向治疗中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1843-1847

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费.审稿周期及发表周期不变.(《世界华人消化杂志》编辑部)

循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉, 河北医科大学第一医院肿瘤科 河北省石家庄市 050013

李娜, 副主任医师, 主要从事晚期消化系统恶性肿瘤的综合治疗。

作者贡献分布: 课题设计与论文书写由李娜完成; 病例收集、治疗操作及患者观察由薄常文、邹长鹏及马文华完成; 郑铮负责机器操作与数据分析; 安永辉负责研究指导及技术指导。

通讯作者: 安永辉, 教授, 主任医师, 050013, 河北石家庄市东岗路89号, 河北医科大学第一医院肿瘤科。sjzyhd@vip.sina.com
电话: 0311-85917272

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-11-15 在线出版日期: 2013-11-28

Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum

Na Li, Chang-Wen Bo, Chang-Peng Zou, Wen-Hua Ma, Zheng Zheng, Yong-Hui An

Na Li, Chang-Wen Bo, Chang-Peng Zou, Wen-Hua Ma, Zheng Zheng, Yong-Hui An, Department of Medical Oncology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Correspondence to: Yong-Hui An, Professor, Chief Physician, Department of Medical Oncology, the First Hospital of Hebei Medical University, 89 Donggang Road, Shijiazhuang 050013, Hebei Province, China. sjzyhd@vip.sina.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-11-15 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To compare the curative effect and adverse effects of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy versus simple intraperitoneal chemotherapy in the management of malignant seroperitoneum secondary to gastrointestinal tumors.

METHODS: Eighty-four inpatients with malignant seroperitoneum secondary to gastrointestinal tumors treated at our hospital between October 2010 and February 2013 were enrolled in the study. They were randomly and equally divided into either a study group to undergo continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy or a control group to receive in-

traperitoneal chemotherapy. The differences in curative effect, quality of life and adverse effects were compared between the two groups.

RESULTS: The rate of ascites control was significantly higher in the study group than in the control group (88.33% vs 59.52%, $P < 0.05$). The rate of improvement of quality of life was also higher in the study group (88.1% vs 53.76%, $P < 0.05$). Adverse effects included mild nausea and vomiting, temporary abdominal pain, CTCAE grade I–II bone marrow depression (BMD), and no grade III–IV BMD was identified. No significant differences in adverse effect were observed between the two groups.

CONCLUSION: Continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy is superior to simple intraperitoneal chemotherapy in the management of malignant seroperitoneum in terms of ascite control, improvement of quality of life, and adverse effects.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy; Peritoneal infusion; Malignant ascites

Li N, Bo CW, Zou CP, Ma WH, Zheng Z, An YH. Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion chemotherapy for malignant seroperitoneum. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3757-3761 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3757.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3757>

摘要

目的: 探讨循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液对比单纯灌注化疗的临床疗效、生活质量改善及不良反应的差异。

方法: 收集本院2010-10/2013-02胃肠道肿瘤伴恶性腹腔积液84例患者, 随机分为腹腔循环热灌注化疗组42例(治疗组)及单纯腹腔化疗组

■背景资料

恶性腹腔积液是与恶性肿瘤相关的腹腔内液体积聚, 是肿瘤晚期常见并发症之一, 其所致腹胀、腹痛严重影响着患者的生存质量, 控制腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义。有研究和临床实践证明, 腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗。我们应用体腔恒温循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液, 取得很好的疗效。

■同行评议者

季加孚, 教授, 北京大学肿瘤医院; 姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■ 研发前沿

腹腔热化疗取得成功的关键在于温度的控制与维持,这是好的治疗效果及保证安全的关键。我们所应用的体腔热灌注治疗机由加热装置、灌注系统、控制系统组成,形成全封闭的实时监控和调节的循环治疗系统,实现了腔内灌注液温度的实时检测和调控。本研究严格使入体温度控制于 42°C - 43°C ,出体温度控制于 40°C - 41°C ,循环时间1 h,保证了灌注液在体内的有效治疗温度。

42例(对照组),观察两组患者治疗后腹水控制率、生活质量改善、不良反应情况。

结果:治疗组腹腔积液控制率为83.33%,对照组腹腔积液控制率59.52%,治疗组显著高于对照组($P<0.05$)。治疗组治疗后生活质量改善为88.1%,对照组生活质量改善53.76%,治疗组显著高于对照组($P<0.05$)。两组患者不良反应仅有轻度恶心呕吐、一过性腹痛,Ⅰ、Ⅱ度骨髓抑制,无Ⅲ、Ⅳ度毒性,两组对照无差异。

结论:循环热灌注化疗较单纯腔内热疗可提高胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的控率,能显著改善患者的生活质量,不良反应轻,值得临床应用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 热灌注化疗; 腹腔灌注; 恶性腹腔积液

核心提示: 控制恶性腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义。有研究和临床实践证明,腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗。普通的热灌注化疗方法灌注液的温度在传输管道中会随热量的散失而温度下降,无法保证灌注液的恒温。我们应用体腔恒温循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液,取得了很好的疗效。本研究严格使入体温度控制 42°C - 43°C ,出体温度控制于 40°C - 41°C ,保证了灌注液在体内的有效治疗温度,取得了较高的有效率,同时与单纯化疗灌注比较未增加不良反应,亦未发生热相关性不良损伤。

李娜, 薄常文, 邹长鹏, 马文华, 郑铮, 安永辉. 循环热灌注化疗与单纯灌注化疗治疗胃肠道肿瘤恶性腹腔积液的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3757-3761 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3757.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3757>

0 引言

恶性腹腔积液是与恶性肿瘤相关的腹腔内液体积聚,是肿瘤晚期常见并发症之一,因原发灶不同,预后有差异,以胃肠道来源的恶性腹水最差,1年生存率 $<10\%$ ^[1]。因恶性腹腔积液是肿瘤进展到晚期的表现,腹水所致腹胀、腹痛严重影响着患者的生存质量,控制腹水快速生长或消除腹水在晚期肿瘤的综合治疗中有重要意义^[2]。有研究和临床实践证明,腹腔热灌注化疗对恶性腹腔积液的疗效要好于单纯化疗^[3]。普通的热灌注化疗方法灌注液的温度在传输管道中会随热量的

散失而温度下降,无法保证灌注液的恒温。近十年来,体腔恒温循环热灌注化疗(coelom continued circulatory hyperthermia perfusion, CCCHP)作为新的治疗方法在治疗腹腔恶性肿瘤腹膜转移方面取得了较好的疗效,在国内外得到了越来越多的应用^[4-6],我们应用循环热灌注化疗治疗胃肠道肿瘤所致恶性腹腔积液,取得了很好的疗效,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2010-10/2013-02住院胃肠道肿瘤伴恶性腹腔积液84例患者,随机分为腹腔循环热灌注化疗组42例(治疗组)及单纯腹腔化疗组42例(对照组)。治疗组男23例、女19例,中位年龄64岁;其中原发病为胃癌10例,结肠癌18例,直肠癌14例,卡氏评分(Karnofsky performance status, KPS)评分 <40 分3例,40-60分8例, >60 分31例;对照组男24例、女18例,中位年龄66岁;其中原发病为胃癌11例,结肠癌19例,直肠癌12例, KPS评分 <40 分4例,40-60分7例, >60 分32例;两组患者一般资料具有可比性。所有患者经彩超证实有腹腔积液且经脱落细胞检测均查出恶性肿瘤细胞。近1 mo内未接受全身化疗。热化疗灌注机,吉林迈达医疗器械有限公司生产,型号: RHL-2000A。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者在B超定位后,治疗组分别于左、右腹行腹腔穿刺置中心静脉导管,置管后尽可能引流尽腹水。将热化疗灌注机一次性循环管路连接,机器循环导管入口及出口分别接患者左、右腹中心静脉导管,据患者耐受情况灌入1500-3000 mL 0.9%生理盐水+80 mg顺铂,使入体温度控制于 42°C - 43°C ,出体温度控制于 40°C - 41°C ,循环速度为100-150 mL/分。操作机器持续循环1 h以上,然后排尽灌注液。对照组患者则行单侧腹腔穿刺置中心静脉导管,置管后尽可能引流尽腹水腹腔内灌入500-1000 mL 0.9%生理盐水+80 mg顺铂,嘱患者每15-20 min缓慢变换体位1次,以利于药物均匀分布整个腹腔,72 h开放引流腹水。所有患者在治疗前30 min给予昂丹司琼8 mg静脉注射预防呕吐,治疗组与对照组均每周灌注1次,腹腔积液完全消失或连续灌注3 wk时停止。详细记录用药后的反应,每周复查血常规、B超,治疗结束后复查血常规、肝肾功能及彩超,评价疗效和不良反应。

1.2.2 近期临床疗效判定: 按照WHO标准判定,

表 1 两组近期疗效评价 ($n = 42$)

分组	CR	PR	SD	PD	RR(%)
治疗组	12	23	4	3	83.33 ^a
对照组	9	16	10	7	59.52

^a $P < 0.05$ vs 对照组. CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展; RR: 有效率.

表 2 两组治疗后生活质量比较 ($n = 42, n(\%)$)

分组	改善	稳定	降低
治疗组	37(88.1) ^a	2(4.76)	3(7.14)
对照组	23(54.76)	9(21.43)	10(23.81)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

完全缓解(complete response, CR): 腹腔积液完全消失, 症状消失, 稳定4 wk以上; 部分缓解(partial response, PR): 积液减少50%及以上, 症状改善, 残留的积液观察4 wk无增长; 稳定(stable disease, SD): 腹水减少不足50%或增加<25%至少以上, 持续4 wk; 进展(progression disease, PD): 腹腔积液较原来增加25%, 症状加重. 以(CR+PR)/总例数 $\times 100\%$ 计算有效率(response rate, RR).

1.2.3 生活质量(quality of life, QOL)评定: 按KPS标准为指标. 治疗后卡氏评分增加 ≥ 10 为QOL改善, 增加<10分为QOL稳定, KPS减少 ≥ 10 分为QOL降低.

1.2.4 不良反应: 药物不良反应照NCI CTC3.0标准评价, 分为0-IV度. (1)恶心: 0度: 无恶心; I度: 可进食, 食量正常; II度: 食量明显下降, 但可进食; III度: 不能进食; (2)呕吐: 0度: 无呕吐; I度: 24 h内1次; II度: 24 h内2-5次; III度: 24 h内6-10次; IV度: 24 h内>10次或需输液; (3)口腔溃疡: 0度: 口腔黏膜无异常; I度: 无痛性溃疡, 红斑, 轻度口疮; II度: 红斑疼痛, 水肿, 溃疡, 但可进食; III度: 红斑疼痛, 水肿, 溃疡, 不能进食; IV度: 需肠内或肠外支持治疗; (4)血液学毒性: 白细胞计数($\times 10^9/L$): 0度: ≥ 4.0 ; I度: 3.0-3.9; II度: 2.0-2.9; III度: 1.0-1.9; IV度: < 1.0 . 血红蛋白(g/L): 0度: 正常; I度: 100.0-正常值; II度: 80.0-99.9; III度: 65.0-79.9; IV度: < 65.0 . 血小板($\times 10^9/L$): 0度: 正常; I度: 75.0-正常值; II度: 50.0-74.9; III度: 25.0-49.9; IV度: < 25.0 ; (5)周围神经毒性: 0度: 正常; I度: 感觉异常和/或腱反射减弱; II度: 严重感觉异常和/或轻度无力; III度: 不能耐

表 3 两组不良反应比较 ($n = 42, n(\%)$)

分组	恶心、呕吐	白细胞减少	血红蛋白减少	血小板减少
治疗组	4(9.52)	6(14.29)	2(4.76)	3(7.14)
对照组	3(7.14)	7(16.67)	2(4.76)	2(4.76)

受的感觉异常和/或显著运动障碍; IV度: 瘫痪.

统计学处理 采用SPSS11.0软件进行统计学处理, 组间比较采用方差分析, 计数资料采用 χ^2 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床疗效 治疗组CR 12例, PR 23例, SD 4例, PD 3例, 有效率为83.33%. 对照组其中CR 9例, PR 16例, SD 10例, PD 7例, 有效率为59.52%. 治疗组有效率与对照组比较有显著性差异($P < 0.05$)(表1).

2.2 生活质量评定 治疗组患者治疗后生活质量(QOL)改善、稳定、降低分别为37例(88.1%)、3例(7.14%)和3例(7.14%), 对照组患者治疗后生活质量(QOL)改善、稳定、降低分别为23例(54.76%)、9例(21.43%)和10例(23.81%). 生活质量改善两组对照有显著性差异($P < 0.05$)(表2).

2.3 不良反应 患者的治疗耐受性良好, 仅有轻度恶心呕吐、一过性腹痛、I、II度骨髓抑制, 无III、IV度毒性, 无肠黏连、肠梗阻、肠坏死等不良反应, 无治疗相关性死亡(表3).

3 讨论

恶性腹腔积液是晚期胃肠道肿瘤最常见并发症之一, 在姑息性治疗过程中, 恶性腹水所引起的症状如腹胀、腹痛、厌食、呼吸困难等显著影响患者生存质量, 与病情恶化和预后相关^[7]. 腹腔穿刺引流腹水可快速缓解症状, 但不能控制腹水的成长, 腹腔内灌注药物治疗是恶性腹腔积液局部治疗的重要方法^[8]. 腹腔内化疗药物注射可增高药物局部浓度, 延长药物与肿瘤接触时间, 全身反应轻. 自1980年Speyer建立了抗癌药腹腔内化疗药代动力学数学模型, 奠定了腹腔内化疗的理论基础, 逐渐在临床广泛应用. 腹腔内化疗可较好控制腹水生长, 不良反应有发热、腹痛及肠黏连^[9].

肿瘤热疗是用加热方式治疗肿瘤的一种方法, 即利用有关物理能量在组织中沉淀而产生热效应, 使肿瘤组织温度上升到有效治疗温度,

■ 相关报道

第四军医大学唐都医院肿瘤科郭珊等探讨在不同温度下进行体腔恒温循环热灌注化疗对实验动物生命体征和腹腔各脏器的影响, 以寻求治疗的最适温度和有效控温的途径. 结论显示41℃腹腔温度体腔恒温循环热灌注化疗3次, 每次1 h是安全可行的, 可以作为CCCHP联合化疗的安全治疗温度. 第四军医大学西京医院肿瘤中心张晓飞等观察腹腔循环热灌注联合化疗治疗晚期胃癌的有效性和安全性, 结果显示腹腔循环热灌注联合化疗和单纯静脉化疗治疗胃癌均有效, 但在有效率、临床获益率、腹水治疗有效率和中位无进展生存时间、中位总生存期方面, 腹腔循环热灌注联合化疗明显优于单纯化疗, 并且不良反应无明显增加.

■创新盘点

我们所应用的体腔热灌注治疗机循环热化疗灌注治疗恶性腹腔积液, 本研究严格使入体温度控制 42°C - 43°C , 出体温度控制于 40°C - 41°C , 保证了灌注液在体内的有效治疗温度, 取得了较高的有效率, 同时与单纯化疗灌注比较未增加不良反应, 亦未发生热相关性不良损伤。

并维持一段时间, 以杀死肿瘤细胞, 而又不损伤正常细胞的一种治疗方法^[10,11]。肿瘤的热疗目前已在临床上广泛应用, 并显出了良好的疗效, 成为恶性肿瘤的一种新的治疗方法并显示出其良好的应用前景^[12]。热疗能增强化疗药物治疗的作用, Asaumi等^[13]研究发现在高热条件下, 多柔比星对有和无多柔比星耐药的肿瘤细胞具有相同的毒性。虞喜豪等^[14]报道腹腔化疗联合腹部透热全身热疗治疗恶性腹水的临床观察, 其中联合组治疗恶性腹水的缓解率为64%, 仅行腹腔灌注化疗组恶性腹水的缓解率为46.4%。Atanackovic等^[15]发现, 全身热疗在增强化疗的抗肿瘤效应的同时, 并不增加骨髓抑制作用, 反而对化疗引起的骨髓抑制起保护作用。而高温化学治疗(40°C - 43°C)同时更有利于药物渗透组织, 使得腹腔内化学治疗效果好于单纯化学治疗^[16]。与热疗发挥协同作用的药物有铂类、拓扑异构酶抑制剂、双糖胞苷、紫杉醇、环磷酰胺等, 目前认为安全可行^[17]。

腹腔热灌注化疗技术(intraperitoneal hyperthermic chemotherapy, IHCP)是热疗与化疗相结合的综合治疗方法, 与化疗联合应用发挥协同作用。通常认为对肿瘤细胞发挥效应的温度为 40°C - 43°C ^[18-20], 有报道指出如果温度 $<40^{\circ}\text{C}$, 则达不到有效杀伤癌细胞, 还可能促使癌细胞扩散^[21,22]。当温度高于 43°C 时, 肿瘤细胞主要表现为崩解、坏死, 不表现逆转耐药效应, 但实验证实高温对正常组织也有不可忽视的损伤, 以小肠、肝脏的并发症为多见^[23-25]。所以腹腔内有效治疗温度的控制与维持是热疗取得治疗效果及保证安全的关键。我们所应用的体腔热灌注治疗机由加热装置, 灌注系统, 控制系统组成。形成全封闭的实时监控和调节的循环治疗系统。实现了腔内灌注液温度的实时检测和调控。本研究严格使入体温度控制于 42°C - 43°C , 出体温度控制于 40°C - 41°C , 保证了灌注液在体内的有效治疗温度。

本研究结果显示, 治疗组腹腔积液控制率为83.33%, 对照组腹腔积液控制率59.52%, 治疗组显著高于对照组($P<0.05$)。治疗组治疗后生活质量改善为88.1%, 对照组生活质量改善53.76%, 治疗组显著高于对照组($P<0.05$)。结果证明腔内循环热灌注化疗较单纯腔内热疗可提高恶性腹腔积液的控制效果, 能显著改善晚期肿瘤患者的生活质量, 为患者的进一步治疗创造了很好的条件。这一结果与国内外相关报道一致^[26,27]。

本研究结果还显示, 腔内循环热灌注化疗的不良反应主要以 I、II°胃肠道反应为主, 其次为轻度骨髓抑制, 较单纯化疗组无明显差异。因本研究热灌注入体温度严格控制在 43°C , 未发生相关热损伤。研究治疗过程无严重并发症和治疗相关性死亡, 治疗有效率高。

总之, 循环热灌注化疗治疗恶性腹腔积液因操作简便、安全易行、持久恒温、疗效可靠、损伤小、并发症少, 对于恶性积液的控制率明显高于普通体腔化疗, 是一种理想的治疗方法, 值得推广。但由于对体腔热化疗认识及现有的热疗设备、实施方法无统一要求, 临床应用面临的问题较多, 如对于热疗设备要求、循环温度、时间、疗程等均无统一规范, 疗效相差较大, 还需继续努力研究、实践、交流, 逐步将体腔循环灌注热化疗规范合理化, 使更多的患者得到安全、有效的治疗。

4 参考文献

- 1 Ammouri L, Prommer EE. Palliative treatment of malignant ascites: profile of catumaxomab. *Biologics* 2010; 4: 103-110 [PMID: 20531969 DOI: 10.2147/BTT.S6697]
- 2 Levine EA, Stewart JH, Russell GB, Geisinger KR, Loggie BL, Shen P. Cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal surface malignancy: experience with 501 procedures. *J Am Coll Surg* 2007; 204: 943-953; discussion 953-955 [PMID: 17481516 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2006.12.048]
- 3 Glehen O, Mithieux F, Osinsky D, Beaujard AC, Freyer G, Guertsch P, Francois Y, Peyrat P, Panteix G, Vignal J, Gilly FN. Surgery combined with peritonectomy procedures and intraperitoneal chemohyperthermia in abdominal cancers with peritoneal carcinomatosis: a phase II study. *J Clin Oncol* 2003; 21: 799-806 [PMID: 12610177 DOI: 10.1200/JCO.2003.06.139]
- 4 Glehen O, Cotte E, Schreiber V, Sayag-Beaujard AC, Vignal J, Gilly FN. Intraperitoneal chemohyperthermia and attempted cytoreductive surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Br J Surg* 2004; 91: 747-754 [PMID: 15164446 DOI: 10.1002/bjs.4473]
- 5 de Bree E, Koops W, Kröger R, van Ruth S, Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Preoperative computed tomography and selection of patients with colorectal peritoneal carcinomatosis for cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 65-71 [PMID: 16290055 DOI: 10.1016/j.ejso.2005.09.016]
- 6 Shen P, Levine EA, Hall J, Case D, Russell G, Fleming R, McQuellon R, Geisinger KR, Loggie BW. Factors predicting survival after intraperitoneal hyperthermic chemotherapy with mitomycin C after cytoreductive surgery for patients with peritoneal carcinomatosis. *Arch Surg* 2003; 138: 26-33 [PMID: 12511145 DOI: 10.1001/archsurg.138.1.26]
- 7 Adam RA, Adam YG. Malignant ascites: past, pres-

- ent, and future. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 999-1011 [PMID: 15194082 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2004.01.035]
- 8 王婷婷, 刘宝瑞, 钱晓萍. 恶性腹腔积液的治疗进展. *临床肿瘤学杂志* 2007; 12: 787-790
- 9 米登海, 陈学鹏, 石远凯. 腹腔内化疗治疗恶性腹水. *国际肿瘤学杂志* 2006; 33: 854-857
- 10 康艳霞, 张贺龙. 肿瘤热疗机制的研究进展. *现代肿瘤学* 2008; 16: 473-475
- 11 杜锋, 王苗. 多西紫杉醇腹腔灌注化疗联合热疗治疗恶性腹水的疗效研究. *当代医学* 2012; 18: 52-53
- 12 Tranberg KG. Percutaneous ablation of liver tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 125-145 [PMID: 15123088 DOI: 10.1016/j.bpg.2003.08.001]
- 13 Asaumi J, Kawasaki S, Kuroda M, Takeda Y, Hiraki Y. Thermosensitivity and thermotolerance in the adriamycin-resistant strain of Ehrlich ascites tumor cells. *Anticancer Res* 1996; 16: 2569-2573 [PMID: 8917353]
- 14 虞喜豪, 李新娉, 周建梁, 王建平, 王革芳. 腹腔化疗联合腹部透热全身热疗治疗恶性腹水的疗效观察. *临床内科杂志* 2007; 24: 253-255
- 15 Atanackovic D, Nierhaus A, Neumeier M, Hossfeld DK, Hegewisch-Becker S. 41.8 degrees C whole body hyperthermia as an adjunct to chemotherapy induces prolonged T cell activation in patients with various malignant diseases. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 603-613 [PMID: 12439605 DOI: 10.1007/s00262-002-0327-x]
- 16 Barni S, Cabiddu M, Ghilardi M, Petrelli F. A novel perspective for an orphan problem: old and new drugs for the medical management of malignant ascites. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 79: 144-153 [PMID: 20708947 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.07.016]
- 17 Valle M, Van der Speeten K, Garofalo A. Laparoscopic hyperthermic intraperitoneal peroperative chemotherapy (HIPEC) in the management of refractory malignant ascites: A multi-institutional retrospective analysis in 52 patients. *J Surg Oncol* 2009; 100: 331-334 [PMID: 19697441 DOI: 10.1002/jso.21321]
- 18 Agostinelli E, Tempera G, Molinari A, Salvi M, Battaglia V, Toninello A, Arancia G. The physiological role of biogenic amines redox reactions in mitochondria. New perspectives in cancer therapy. *Amino Acids* 2007; 33: 175-187 [PMID: 17390098 DOI: 10.1007/s00726-007-0510-7]
- 19 Wartenberg M, Gronczynska S, Bekhite MM, Saric T, Niedermeier W, Hescheler J, Sauer H. Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular prostate tumor spheroids by hyperthermia and reactive oxygen species. *Int J Cancer* 2005; 113: 229-240 [PMID: 15389514 DOI: 10.1002/ijc.20596]
- 20 魏红梅, 郭坤元, 梅家转, 常红, 宋朝阳, 邓兰, 牛新青. 热疗联合化疗对K562/AO2细胞体外作用的实验研究. *中国实验血液学杂志* 2007; 15: 724-728
- 21 Legendijk JJ. Hyperthermia treatment planning. *Phys Med Biol* 2000; 45: R61-R76 [PMID: 10843091]
- 22 高枫. 腹腔内温热灌注化疗在胃肠道癌中的应用现状. *中国普外基础与临床杂志* 1999; 6: 45-47
- 23 Yonemura Y, Fujimura T, Nishimura G, Falla R T, Katayama K, Tsugawa K, Fushida S, Miyazaki I, Tanaka M, Endou Y, Sasaki T. Effects of intraoperative chemohyperthermia in patients with gastric cancer with peritoneal dissemination. *Surgery* 1996; 119: 437-444 [PMID: 8644010 DOI: 10.1016/S0039-6060(96)80145-0]
- 24 白植军, 蔡开林, 田元. 持续温热腹腔灌注对大鼠外周血NK细胞活性和腹腔器官的影响. *同济医科大学学报* 1997; 4: 102-104
- 25 Younan R, Kusamura S, Baratti D, Oliva GD, Costanzo P, Favaro M, Gavazzi C, Deraco M. Bowel complications in 203 cases of peritoneal surface malignancies treated with peritonectomy and closed-technique intraperitoneal hyperthermic perfusion. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 910-918 [PMID: 16177862 DOI: 10.1245/ASO.2005.11.030]
- 26 刘志敏, 康琳, 刘义冰, 吕雅蕾. 腹腔热灌注顺铂治疗恶性腹水的临床观察. *肿瘤* 2007; 27: 508-510
- 27 Tsiftsis D, de Bree E, Romanos J, Petrou A, Sanidas E, Askoxylakis J, Zervos K, Michaloudis D. Peritoneal expansion by artificially produced ascites during perfusion chemotherapy. *Arch Surg* 1999; 134: 545-549; discussion 550 [PMID: 10323428 DOI: 10.1001/archsurg.134.5.545]

■同行评价

本文研究方法科学合理, 具有一定临床指导意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣

■背景资料

应激性溃疡在严重创伤、大手术以及危重患者合并有出血、休克、感染以及严重脏器功能受损时发病率较高, 主要表现为胃、十二指肠畸形、多发性黏膜浅表糜烂和溃疡, 多数患者可发生上消化道出血, 少数患者发生穿孔。应激性溃疡患者如不及时采取有效治疗干预, 常常危及生命安全。危重患者发生应激性溃疡出血原因较为复杂, 涉及到神经-内分泌-免疫系统、胃运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面因素。临床研究表明, 应激状态下诱发应激性溃疡的主要因素为黏膜缺血、黏膜屏障受损和胃酸分泌升高。目前临床治疗应激性溃疡的方法较多, 一般以监控患者生命体征和抑制胃酸分泌为主, 疗效不一。

■同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣, 河南省南阳市中心医院消化科 河南省南阳市 473009

夏永欣, 主治医师, 主要从事胃肠道病及肝病的研究。

作者贡献分布: 主要课题设计和文章起草由夏永欣完成; 病例选择、临床资料收集由尚品杰完成; 数据分析刘晓政、张向东及许欣完成; 文章修改和审阅由夏永欣完成。

通讯作者: 夏永欣, 主治医师, 473009, 河南省南阳市宛城区312号, 南阳市中心医院消化科二病区. yongxinia@hotmail.com

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-11-28

Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer

Yong-Xin Xia, Pin-Jie Shang, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Xin Xu

Yong-Xin Xia, Pin-Jie Shang, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Xin Xu, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China

Correspondence to: Yong-Xin Xia, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, II Ward, 312 Wancheng District, Nanyang 473009, Henan Province, China. yongxinia@hotmail.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-11-28

Abstract

AIM: To assess the curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in the treatment of stress ulcer (SU).

METHODS: Seventy-two SU patients were randomly divided into either an experiment group or a control group. The experiment group was treated with omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy, and the control group was treated with cimetidine. The curative effect, pretreatment and posttreatment gastric juice pH values, the time required for bleeding to stop, the time to negative results of occult blood tests, duration of abdominal distension, hospital stay, and hospitalization expenses were compared between two groups.

RESULTS: The response rate and total effective rate were significantly higher in the experiment group than in the control group (38.89% vs 16.67%, 91.67% vs 61.11%, both $P < 0.05$). No cases developed nausea or vomiting, and no significant changes in kidney and liver function were noted between pretreatment and posttreatment. Posttreatment gastric juice pH values were significantly higher than pretreatment values in the two groups (5.13 ± 0.72 vs 1.39 ± 0.71 ; 3.69 ± 0.70 vs 1.37 ± 0.69 , both $P < 0.05$). Posttreatment gastric juice pH value was significantly higher in the experiment group than in the control group ($P < 0.05$). The time required for bleeding to stop, the time to negative results of occult blood tests, duration of abdominal distension, hospital stay, and hospitalization expenses were significantly lower in the experiment group than in the control group (13.15 ± 2.73 vs 21.75 ± 6.41 ; 18.85 ± 1.48 vs 56.74 ± 2.17 ; 53 ± 0.62 vs 1.97 ± 0.60 ; 21.75 ± 6.41 vs 28.13 ± 9.42 ; 11420.33 ± 4900.55 vs 17705.69 ± 8378.89 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy is effective and safe in the management of SU.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Stress ulcer; Omeprazole; Glutamine; Curative effect

Xia YX, Shang PJ, Liu XZ, Zhang XD, Xu X. Curative effect of omeprazole- and glutamine-containing quadruple therapy in treatment of stress ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(33): 3762-3766 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3762.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i33.3762>

摘要

目的: 探讨奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效。

方法: 按照数字随机分组法将我院消化科及

ICU收治的72例发生应激性溃疡(stress ulcer, SU)的危重症患者均分为实验组和对照组, 实验组患者给予奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法(兰尼、洁维乐、麦滋林联合思连康)治疗, 对照组患者给予西咪替丁治疗, 比较两组患者临床疗效、治疗前后胃液pH变化、咖啡样物或鲜血停止时间、隐血试验阴转时间、腹胀持续时间、住院时间及住院费用。

结果: 实验组显效率和总有效率均明显高于对照组(38.89% vs 16.67%; 91.67% vs 61.11%) 差异具有显著性($P<0.05$); 治疗前后两组患者均未发生恶心、呕吐等不良反应, 肝、肾功能未出现明显变化; 两组患者治疗7 d胃液pH值较治疗前均明显升高(5.13 ± 0.72 vs 1.39 ± 0.71 ; 3.69 ± 0.70 vs 1.37 ± 0.69), 差异具有显著性($P<0.05$); 实验组治疗7 d胃液pH值明显高于对照组(5.13 ± 0.72 vs 3.69 ± 0.70), 差异具有显著性($P<0.05$); 实验组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间均明显低于对照组($13.15\text{ h}\pm2.73\text{ h}$ vs $21.75\text{ h}\pm6.41\text{ h}$; $18.85\text{ h}\pm1.48\text{ h}$ vs $56.74\text{ h}\pm2.17\text{ h}$), 差异具有显著性($P<0.05$); 实验组患者平均腹胀持续时间、平均住院时间及平均住院费用均明显低于对照组($1.53\text{ d}\pm0.62\text{ d}$ vs $1.97\text{ d}\pm0.60\text{ d}$; $21.75\text{ d}\pm6.41\text{ d}$ vs $28.13\text{ d}\pm9.42\text{ d}$; $11420.33\text{ 元}\pm4900.55\text{ 元}$ vs $17705.69\text{ 元}\pm8378.89\text{ 元}$), 差异具有显著性($P<0.05$)。

结论: 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 无明显不良反应, 安全性高, 能够促进患者康复、缩短病程、降低治疗费用, 临床应用和推广价值较高。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 应激性溃疡; 奥美拉唑; 谷氨酰胺; 疗效

核心提示: 本研究针对应激性溃疡的主要诱发因素采取包括抑制胃酸、肠道免疫营养、肠道微生态菌群调节和胃肠道黏膜保护等多个方面的综合治疗即奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡, 取得了良好的临床效果。

夏永欣, 尚品杰, 刘晓政, 张向东, 许欣. 奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡的临床效果. 世界华人消化杂志 2013; 21(33): 3762-3766 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3762.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i33.3762>

0 引言

应激性溃疡主要是指胃、十二指肠在各种应激

状态(包括严重创伤、大手术、感染、合并症以及严重脏器功能受损等)的影响下发生急性及多发性黏膜浅表糜烂和溃疡^[1]. 应激性溃疡属于危重疾病常见并发症, 患者临床主要表现为上消化道大出血, 出血后死亡率大大增加. 应激性溃疡诱发因素较为复杂, 涉及胃的运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面^[2], 临床治疗方法也较多, 疗效不一. 我院采用奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗SU已经取得了令人满意的临床效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-05/2013-05我院ICU收治的发生应激性溃疡的危重症患者72例作为研究对象. 所有患者均符合应激性溃疡相关诊断标准^[3], 血常规检查结果显示血红蛋白含量和血细胞比容下降, 大便隐血试验为阳性, 胃镜检查早期可见胃近段黏膜上出现散落苍白斑点, 24-36 h后进展为多发性浅表红色糜烂点, 之后即可发生溃疡, 部分表现为活动性出血^[4]. 所有患者均排除有消化性溃疡、肝病以及其他出血或凝血疾病者, 原发病起病前均未出现呕血和黑便. 按照数字随机分组法将72例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、原发病及病情等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 实验组患者给予奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗, 奥美拉唑(山东鲁抗辰欣药业有限公司, 国药准字H20083922)0.6-0.8 mg/(kg·次), 静脉输注, 1次/d; 磷酸铝凝胶(洁维乐, 韩国保宁制药株式会社)20 g/次, 口服, 3次/d; L-谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒(麦滋林, 日本寿制药株式会社)0.67 g/次, 出血严重者可增至1.3 g/次, 口服, 3次/d; 双歧杆菌四联活菌制剂(思连康, 杭州龙达新科生物制药有限公司)1片/次, 口服, 3次/d^[5]. 对照组患者给予西咪替丁(海南制药厂有限公司, 国药准字H23022968)治疗, 10-20 mg/(kg·d), 静脉输注, 2次/d. 所有患者停止出血后停止治疗. 所有患者均留置胃管进行定时回抽胃液, 每次抽取胃液均丢弃最初的5-10 mL, 然后使用无菌注射器抽取胃液, 连续抽取1 h, 存放于无菌瓶内待检, 每隔8 h抽取1次^[6]. 使用精密pH试纸测定待检胃液pH值, 将pH试纸浸入胃液1 s后取出与标准色板比色并读出pH值. 同时密切监测患者胃液颜色变化、大便隐血和便血以及应激性溃疡出血持续时间。

■ 研发前沿

奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 临床应用和推广价值较高, 但若能够在应激性溃疡预防中进行应用, 也可能取得显著的效果, 需要进一步深入研究。

■应用要点

双歧杆菌四联活菌制剂有生物屏障、机械屏障和免疫屏障三重效果,能够改善应急状态下危重症患者肠道菌群失衡的状态,避免进一步引发多种并发症甚至多器官功能障碍综合征和多器官功能衰竭。

表 1 两组患者临床资料比较 ($n = 36, n(\%)$)

项目	实验组	对照组
性别		
男	19(52.78)	20(55.56)
女	17(47.22)	16(44.44)
平均年龄(岁)	43.73 ± 9.12	44.88 ± 8.97
原发病		
格林巴利综合症	9(25.00)	10(27.78)
重症肺炎	6(16.67)	8(22.22)
急性喉炎	4(11.11)	3(8.33)
药物中毒	3(8.33)	4(11.11)
化脓性脑膜炎	8(22.22)	6(16.67)
颅内出血	3(8.33)	2(5.56)
脓毒血症	3(8.33)	3(8.33)

表 2 两组患者临床疗效比较 ($n = 36$)

分组	显效 $n(\%)$	有效 $n(\%)$	无效 $n(\%)$	总有效率 $(\%)$
实验组	14(38.89) ^a	19(52.78)	3(8.33) ^b	91.67 ^b
对照组	6(16.67)	16(44.44)	14(38.89)	61.11

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

1.2.2 观察指标: 比较两组患者临床疗效、治疗前后胃液pH变化、咖啡样物或鲜血停止时间、隐血试验阴转时间、腹胀持续时间、住院时间及住院费用。疗效评价标准^[7]: 以胃管内无咖啡色或血性液体, 临床症状在2 d内消失, 大便隐血3 d内转阴为显效; 以胃管内无咖啡色或血性液体, 临床症状在3 d内消失, 大便隐血5 d内转阴为有效; 以临床症状在3 d后未消失, 大便隐血呈阳性为无效。应激性溃疡出血持续时间为发现呕吐或胃管内引流出咖啡色液体或血性液体、标本隐血(+++)以上至上述现象消失的时间^[8]。

统计学处理 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 计量资料用mean ± SD表示, 差异性比较采用 t 检验, 计数资料比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 实验组显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表2)。治疗前后两组患者均未发生恶心、呕吐等不良反应, 肝、肾功能未出现明显变化。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著, 安全性较高。

2.2 两组治疗前后胃液pH值变化 两组患者治疗7

表 3 两组患者治疗前后胃液pH值比较 ($n = 36$)

分组	治疗前	治疗7 d
实验组	1.39 ± 0.71	5.13 ± 0.72 ^{bc}
对照组	1.37 ± 0.69	3.69 ± 0.70 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组治疗后。

表 4 两组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间比较 ($n = 36, h$)

分组	咖啡样物或鲜血停止时间	隐血试验阴转时间
实验组	13.15 ± 2.73 ^a	18.85 ± 1.48 ^b
对照组	21.75 ± 6.41	56.74 ± 2.17

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

d胃液pH值较治疗前均明显升高, 差异具有显著性($P < 0.05$); 实验组治疗7 d胃液pH值明显高于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表3)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法抑制胃酸分泌效果更佳。

2.3 两组咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间比较 实验组患者咖啡样物或鲜血停止时间及隐血试验阴转时间均明显低于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表4)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法在缩短出血时间上效果显著。

2.4 两组患者腹胀持续时间、住院时间及住院费用比较 实验组患者平均腹胀持续时间、平均住院时间及平均住院费用均明显低于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表5)。表明奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法在缩短腹胀和康复时间上疗效显著, 能够减少患者治疗经济负担。

3 讨论

应激性溃疡在严重创伤、大手术以及危重症患者合并有出血、休克、感染以及严重脏器功能受损时发病率较高, 主要表现为胃、十二指肠畸形、多发性黏膜浅表糜烂和溃疡, 多数患者可发生上消化道出血, 少数患者发生穿孔。应激性溃疡患者如不及时采取有效治疗干预, 常常危及生命安全。危重症患者发生应激性溃疡出血原因较为复杂, 涉及到神经-内分泌-免疫系统、胃运动、分泌、胃肠激素、血流、氧自由基等多方面因素。临床研究表明, 应激状态下诱发应激性溃疡的主要因素为黏膜缺血、黏膜屏障受损和胃酸分泌升高^[9]。目前临床治疗应激性

表 5 两组患者腹胀持续时间、住院时间及住院费用比较 ($n = 36$)

分组	平均腹胀持续时间(d)	平均住院时间(d)	平均住院费用(元)
实验组	1.53 ± 0.62^a	21.75 ± 6.41^a	11420.33 ± 4900.55^a
对照组	1.97 ± 0.60	28.13 ± 9.42	17705.69 ± 8378.89

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

溃疡的方法较多,一般以监控患者生命体征和抑制胃酸分泌为主,疗效不一.

本研究针对应激性溃疡的主要诱发因素采取包括抑制胃酸、肠道免疫营养、肠道微生态菌群调节和胃肠道黏膜保护等多个方面的综合治疗即奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡,取得了良好的临床效果.

其中奥美拉唑由于具有选择性非竞争抑制胃壁细胞中质子泵酶活性的效果,能够有效阻断胃酸分泌最后通道,因此可作为强效胃酸分泌抑制剂.临床研究表明,奥美拉唑对周围性和中枢性泌酸刺激均有较强的抑制效果,大剂量使用时能够达到95%以上的泌酸抑制效果,有助于胃、十二指肠黏膜病变的愈合^[10].本研究中实验组患者治疗7 d后胃液pH值较治疗前均明显升高,且高于对照组治疗后,差异具有显著性,进一步证实了奥美拉唑的抑制胃酸分泌效果.

L-谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒含有水溶性奥磺酸钠和L-谷氨酰胺,其中水溶性奥磺酸钠属于菊科植物花提取物,具有抑制多种致炎物质引发炎症的效果,且药效较为持久.同时也能够通过抑制炎症细胞释放组胺,促进黏膜内前列腺素E2合成和胃黏膜血流量增加,有助于患处上皮细胞新生和肉芽形成^[11].而L-谷氨酰胺则对术前、术后氮平衡有重要作用,能够改善应激状态下的危重患者免疫功能受损的情况,同时保护肠黏膜屏障功能,防止细菌和毒素移位.本研究中实验组患者平均住院时间明显低于对照组,差异具有显著性,表明使用谷氨酰胺呱仑酸钠颗粒免疫营养患者能够有效缩短康复时间.

双歧杆菌四联活菌制剂具有生物屏障、机械屏障和免疫屏障三重效果,能够改善应急状态下危重患者肠道菌群失衡的状态,避免进一步引发多种并发症甚至多器官功能障碍综合征和多器官功能衰竭^[12].

磷酸铝凝胶具有保护肠黏膜屏障的效果,用药后能够在胃、十二指肠黏膜上形成保护性薄膜,代替胃黏液保护胃黏膜^[13,14].既能够防止胃

黏膜自身消化和胃肠刺激,又能够有效将胃肠内发酵气、病原体和毒素吸附于肠腔表面,经由肠道排除体外,达到改善消化道免疫动能和调节菌群平衡的效果^[15].

本研究结果显示奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡较单用西咪替丁治疗临床疗效显著,无明显不良反应,抑制胃酸分泌效果显著,能够有效缩短患者出血时间、腹胀持续时间及康复时间,具有满意的临床效果.

总之,奥美拉唑联合谷氨酰胺四联疗法治疗应激性溃疡临床疗效显著,临床应用和推广价值较高,但若能够在应激性溃疡预防中进行应用,也可能取得显著的效果,需要进一步深入研究.

4 参考文献

- 李兆申. 重视应激性溃疡的规范化防治. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2637-2639
- 朱宇清, 王辰, 谭元菊, 滕乐. 应激性溃疡早期预警因素临床分析研究. 临床急诊杂志 2011; 12: 199-201
- 段志泉, 何三光, 张德洲, 陈东义, 李忠友, 王重九, 沈益芬. 应激性溃疡的诊断与治疗. 实用外科杂志 1981; 01: 243-245
- Spirt MJ, Stanley S. Update on stress ulcer prophylaxis in critically ill patients. Crit Care Nurse 2006; 26: 18-20, 22-28; quiz 29 [PMID: 16443807]
- 杨春明. 奥美拉唑与西咪替丁治疗应激性溃疡的疗效比较. 中国医药指南 2012; 10: 93-94
- 熊四海. 奥美拉唑三联或四联疗法治疗消化性溃疡疗效比较. 中国社区医师(综合版) 2006; 8: 39-40
- 雷建中. 泮托拉唑和奥美拉唑治疗急性脑血管病并发应激性溃疡出血疗效对比分析. 中国社区医师(医学专业) 2013; 15: 76-77
- Tokmakçi M. Analysis of the electrogastrogram using discrete wavelet transform and statistical methods to detect gastric dysrhythmia. J Med Syst 2007; 31: 295-302 [PMID: 17685154 DOI: 10.1007/s10916-007-9069-9]
- 张爽, 刘海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701
- 刘强. 奥美拉唑四联疗法治疗120例消化性溃疡疗效观察. 中国现代药物应用 2010; 4: 127-128
- MUREN A. The effect of vagotomy on gastric motor responses to drugs in dogs. Acta Physiol Scand 1957; 38: 398-414 [PMID: 13410637 DOI: 10.1111/j.1748-1716.1957.tb01402.x]
- 李纯伟. 奥美拉唑四联疗法治疗消化性溃疡的疗效与安全性分析. 中外医学研究 2012; 10: 23-24
- Parkman HP, Harris AD, Miller MA, Fisher RS. Influence of age, gender, and menstrual cycle on the normal electrogastrogram. Am J Gastroenterol 1996;

同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 值得鼓励并且进一步深入研究.

- 91: 127-133 [PMID: 8561112]
- 14 李燕. 奥美拉唑联合L-谷氨酰胺呱仑酸钠治疗老年非
甾体类抗炎药相关溃疡临床研究. 河北医药 2013; 35:
724-725
- 15 郑永刚. 三联疗法联合中药辨证治疗消化性溃疡46例
临床分析. 中国医药导刊 2013; 15: 87-88

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白白浪 副教授
四川大学华西医院感染性疾病中心

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

白雪巍 副主任医师
哈尔滨医科大学

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜群 副研究员
广州中医药大学脾胃研究所药理室

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

方今女 教授
延边大学医学院预防医学教研部

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

傅晓辉 副教授
东方肝胆外科医院

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

黄缘 教授
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李小荣 教授
中南大学湘雅三医院普外二科

刘海峰 主任医师
北京市武警总医院消化科

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

龙学颖 副主任医师
中南大学湘雅医院

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

庄林 主任医师
昆明市第三人民医院肝病科

张火俊 副教授
长海医院放射科

张力为 副教授
新疆医科大学第一附属医院胸外科

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 12 月 8 日 第 21 卷 第 34 期 (Volume 21 Number 34)



34/2013

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊,是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 12 月 8 日 第 21 卷 第 34 期 (总第438期)

述 评	3767 核受体FXR在肝再生中的作用 孟强, 刘克辛
基础 研究	3775 miR-96对胃癌细胞侵袭迁移的影响 毛盛勋, 周智勇, 何楠, 尹成龙, 曹家庆 3783 IL-10在骨髓间充质干细胞分泌的因子逆转急性肝衰竭中的作用 雷延昌, 梁青, 罗盼, 李雯 3790 腹内高压对肠黏膜屏障功能损伤的影响 赵晓琴, 陈英, 邝晓聪, 陈强, 覃桦, 蒙永毅, 叶永康
临床 研究	3799 AMA/AMA-M2阴性原发性胆汁性肝硬化患者的临床及病理特征 刘卫英, 肖琳, 银皓, 詹欣宇, 张泽高, 鲁晓擘, 张跃新 3806 大肠高分化腺癌与大肠腺瘤的质谱成像 何滔, 郭赞, 何轩, 胡晓, 于婷婷, 郑淑芳
文 献 综 述	3813 Barrett食管的分子机制 黄颖秋 3821 胃食管反流病的中西医发病机制及临床研究进展 王瀛峰, 张继全, 吴飞, 阮克锋 3828 重症急性胰腺炎合并胃肠功能障碍的机制研究及诊治现状 刘丽蕾, 王湘英 3835 经括约肌间手术在超低位直肠癌治疗中的应用 李华山, 李宇飞 3842 肛周脓肿的外科治疗 吴炯, 王振宜, 孙建华
研究 快报	3848 调节肝纤维化模型大鼠TGF- β 1表达探讨雷帕霉素改善肝纤维化的相关性 颜文贞, 钟志宏, 戴璟, 戴东, 陈土明, 胡祖超
临床 经验	3853 OX40和SLP-2在食管鳞癌中的表达及其临床意义 蒋冬, 李建生, 张金平, 李东颖, 刘艳红 3858 TG2在胃癌组织中表达的临床意义 李臻, 张志伟, 赵强, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 杨林 3863 RKIP在胃癌组织中的低表达及其侵袭力的影响 卢昭辉, 张谢夫, 刘洪翔, 赵爽 3870 糖尿病患者胃癌发病风险增加的荟萃分析 陆丽华, 董跃滨 3876 原发性肝癌肝移植治疗的病例选择及对策 吴星宇, 仇毓东, 丁义涛 3881 新型NSAIDs药物对ERCP术后胰腺炎发生的影响 王安, 蔡旺, 秦鸣放, 李宁 3887 胰十二指肠切除术联合扩大淋巴清扫治疗壶腹周围癌疗效的系统评价 陈舒婷, 邱建国, 员海超, 蒋辉, 吴泓 3894 双气囊内镜对小肠疾病的临床价值 张毅, 游思洪, 彭昭源, 黄光明 3899 老年人抑郁与肠易激综合征的相关性 王晶, 王晖, 王丹 3904 食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗肠易激综合征 谭全会, 李兴华 3908 美沙拉嗪灌肠液联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎的疗效 刘玲, 钱睿, 周永宁 3914 寒冷气候对南昌地区消化性溃疡及其合并上消化道出血的影响与预防策略 殷冬林, 王健

病例报告	3920 硬化性肠系膜炎并消化系出血1例 史燕妹, 常江, 黄华
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3774 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3789 《世界华人消化杂志》外文字符标准 3812 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3841 《世界华人消化杂志》出版流程 3847 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 3869 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3875 《世界华人消化杂志》修回稿须知 3880 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3903 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3913 《世界华人消化杂志》正文要求 3919 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 刘克辛, 教授, 116044, 辽宁省大连市旅顺口区旅顺南路西段9号, 大连医科大学药学院临床药理教研室
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-12-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

December 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 34

EDITORIAL	3767 Role of nuclear receptor FXR in liver regeneration <i>Meng Q, Liu KX</i>
BASIC RESEARCH	3775 Role of miR-96 in invasion and migration of gastric cancer cells <i>Mao SX, Zhou ZY, He N, Yin CL, Cao JQ</i> 3783 Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate mouse acute liver failure by up-regulating IL-10 <i>Lei YC, Liang Q, Luo P, Li W</i> 3790 Intra-abdominal high pressure induces intestinal barrier dysfunction in rats <i>Zhao XQ, Chen Y, Kuang XC, Chen Q, Qin H, Meng YY, Ye YK</i>
CLINICAL RESEARCH	3799 Clinical and pathological features of primary biliary cirrhosis in anti-mitochondria antibody/anti-mitochondrial antibody M2 subtype negative patients <i>Liu WY, Xiao L, Yin H, Zhan XY, Zhang ZG, Lu XB, Zhang YX</i> 3806 Mass spectrometry imaging for identification of differentially expressed proteins between colorectal adenocarcinoma and colon adenoma <i>He T, Guo Y, He X, Hu X, Yu TT, Zheng SF</i>
REVIEW	3813 Molecular mechanisms responsible for pathogenesis of Barrett's esophagus <i>Huang YQ</i> 3821 Update on the pathogenesis and clinical treatment of gastroesophageal reflux disease <i>Wang YF, Zhang JQ, Wu F, Ruan KF</i> 3828 Severe acute pancreatitis complicated with gastrointestinal dysfunction: Pathogenesis, diagnosis and treatment <i>Liu LL, Wang XY</i> 3835 Intersphincteric resection for treatment of ultra-low rectal cancer <i>Li HS, Li YF</i> 3842 Operative treatment of perianal abscess <i>Wu J, Wang ZY, Sun JH</i>
RAPID COMMUNICATION	3848 Correlation between TGF- β 1 expression and rapamycin-induced liver fibrosis improvement in rats <i>Yan WZ, Zhong ZH, Dai J, Dai D, Chen TM, Hu ZC</i>
CLINICAL PRACTICE	3853 Clinical significance of expression of OX40 and SLP-2 in esophageal squamous cell carcinoma <i>Jiang D, Li JS, Zhang JP, Li DY, Liu YH</i> 3858 Clinical significance of expression of tissue transglutaminase 2 in gastric carcinoma <i>Li Z, Zhang ZW, Zhao Q, Liu ZY, Yang K, Deng YJ, Wu SH, Yang L</i> 3863 Low expression of RKIP in gastric cancer and its role in gastric cancer cell migration <i>Lu ZH, Zhang XF, Liu HX, Zhao S</i> 3870 Diabetes mellitus increases the risk of gastric cancer: A meta-analysis <i>Lu LH, Dong YB</i> 3876 Criteria for case selection and perioperative management in liver transplantation for primary liver carcinoma <i>Wu XY, Qiu YD, Ding YT</i> 3881 Effects of new-type NSAIDs in preventing post-ERCP pancreatitis <i>Wang A, Cai W, Qin MF, Li N</i> 3887 Standard vs extended lymphadenectomy associated with pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma: A meta-analysis <i>Chen ST, Qiu JG, Yuan HC, Jiang H, Wu H</i> 3894 Clinical value of double balloon endoscopy in small intestinal diseases <i>Zhang Y, You SH, Peng ZY, Huang GM</i> 3899 Association between depression and irritable bowel syndrome in elderly patients <i>Wang J, Wang H, Wang D</i> 3904 Food-specific IgG antibodies directed restrictive dietary treatment of IBS <i>Tan QH, Li XH</i>

	<p>3908 Clinical efficacy of mesalazine enema combined with triple live bacterial agent of <i>Clostridium butyricum</i>, <i>Streptococcus faecalis</i> and <i>Bacillus mesentericus</i> in patients with mild to moderate distal ulcerative colitis <i>Liu L, Qian R, Zhou YN</i></p> <p>3914 Impact of cold weather on peptic ulcer and upper gastrointestinal bleeding and preventive strategies <i>Yin DL, Wang J</i></p>
CASE REPORT	<p>3920 Sclerosing mesenteritis with digestive hemorrhage as the first sign: A case report <i>Shi YM, Chang J, Huang H</i></p>
APPENDIX	<p>I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p> <p>I Meeting events calendar in 2013</p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p>
COVER	<p>Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>, Ke-Xin Liu, Professor, Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Lvs-hunkou District, Dalian 116044, Liaoning Province, China</p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgx.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

核受体FXR在肝再生中的作用

孟强, 刘克辛

孟强, 刘克辛, 大连医科大学药学院临床药理教研室 辽宁省大连市 116044

刘克辛, 教授, 博士生导师, 主要从事肝脏转运体与肝病药物治疗研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81273580, 81302826

作者贡献分布: 本文综述由孟强完成; 刘克辛审校。

通讯作者: 刘克辛, 教授, 116044, 辽宁省大连市旅顺口区旅顺南路西段9号, 大连医科大学药学院临床药理教研室。

kexinliu@dlmedu.edu.cn

电话: 0411-86110407

收稿日期: 2013-07-31 修回日期: 2013-09-28

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-12-08

Role of nuclear receptor FXR in liver regeneration

Qiang Meng, Ke-Xin Liu

Qiang Meng, Ke-Xin Liu, Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81273580, 81302826

Correspondence to: Ke-Xin Liu, Professor, Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Lvshunkou District, Dalian 116044, Liaoning Province, China. kexinliu@dlmedu.edu.cn

Received: 2013-07-31 Revised: 2013-09-28

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-12-08

Abstract

Liver regeneration is a practical compensatory regrowth in response to the loss of hepatic tissue. The mechanism of liver regeneration is very complex and many cytokines, transcription factors and signaling pathways are involved in this process. The farnesoid X receptor (FXR) is a member of metabolic nuclear receptors of intracellular ligand-activated transcription factors and plays an important role in metabolism of bile acids, lipid and glucose. In addition, it has been recently reported that FXR is crucial for liver regeneration. FXR activation directly promotes liver regeneration by regulating hepatocyte proliferation and regulates synthesis and transport of bile acids to prevent the liver from injury by increased bile acids after hepatectomy. The metabolic regulation of FXR is beneficial to liver regeneration. This review focuses on the mechanism of FXR regulation of liver regeneration and targeted drugs.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Farnesoid X receptor; Liver regeneration; Bile acids; Targeted therapy

Meng Q, Liu KX. Role of nuclear receptor FXR in liver regeneration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3767-3774 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3767>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3767>

摘要

肝再生实际上是肝脏在组织发生缺损后进行损伤修复的代偿性增生过程, 其机制非常复杂, 多种细胞因子、核受体和信号通路参与其中。法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是需配体激活的转录因子, 属于代谢性核受体, 在肝脏胆汁酸、脂质、糖代谢过程中起着重要的调节作用。近来研究发现, 核受体FXR对肝脏再生至关重要。FXR的激活通过促进部分肝切除后肝细胞的增殖, 直接促进肝脏再生; 通过调节胆汁酸的合成与转运, 避免切除后胆汁酸过多引起的肝组织损伤; 其代谢调节作用有益于肝再生进程。本文着重对FXR调控肝再生的机制及促肝再生药物靶向治疗做一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 法尼醇X受体; 肝再生; 胆汁酸; 靶向治疗

核心提示: 本文着重介绍了核受体法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)在肝再生中的重要作用, 包括促进肝细胞增殖、降低胆汁酸压力及其代谢调节作用, 并探讨了部分肝切除或活体肝移植术后, 针对FXR的促肝再生药物靶向治疗的可能性。

孟强, 刘克辛. 核受体FXR在肝再生中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3767-3774 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3767> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3767>

0 引言

近年来, 各种原因引起的肝癌或肝硬化等终末

■背景资料

肝切除已成为目前治疗肝癌或肝硬化等终末期肝病最常用的方法。然而研究发现, 大部分行肝切除术的终末期肝病患者, 由于残余肝脏的再生能力低下或迟缓, 部分肝切除术的治疗效果不理想。法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是需配体激活的具有转录因子功能的核受体超家族成员之一, 属于代谢性核受体, 调节着不同代谢途径中相关基因的表达, 现已成为胆汁淤积、糖尿病、动脉硬化及胆固醇结石等代谢性疾病治疗中的研究热点之一。近来研究发现, 核受体FXR还可通过调节肝再生过程中重要基因的表达, 成为肝再生必不可少的调节因子。

■同行评议者

石毓君, 副研究员, 四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

■ 研发前沿

进一步深入研究核受体FXR调节肝再生的机制及相关信号通路,为研发安全有效的促肝再生靶向药物,提高肝脏部分移植或肝癌切除术后肝脏再生能力提供重要指导。而且为了有的放矢地从理论上、实践上阐明药物的作用机制,同时为了提高新药开发的成功率,越来越多的药物研究者将跻身于药物促肝再生作用与核受体FXR相关性的研究中。

期肝病的发病率正逐年升高,肝切除术是其目前最常用也是最有效的治疗方法^[1,2]。然而部分肝切除手术的安全性及其预后在很大程度上取决于患者残余肝脏的再生能力。研究发现,大部分行部分肝切除手术的终末期肝病患者,预后不佳。究其原因,主要在于患者残余肝脏的再生能力低下或迟缓^[3]。如何有效地提高残余肝组织的再生代偿能力,进而提高部分肝切除术的治疗效果已成为当今急需解决的课题之一。法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)作为一个需配体激活具有转录因子功能的核受体,调节着不同代谢途径中相关基因的表达,现已成为胆汁淤积、糖尿病、动脉硬化及胆固醇结石等代谢性疾病治疗中的研究热点之一^[4-8]。最近,有报道表明核受体FXR还调节着肝再生相关基因的表达,成为肝再生必不可少的调节因子^[9-11]。本文简要概述了肝再生过程、FXR的基本性质包括其结构、分布、分型及配体,着重对FXR调控肝再生的机制及促肝再生药物靶向治疗做一综述。

1 肝再生

肝脏是人体重要的代谢与解毒器官,也是体内再生能力非常强的器官之一。正常肝脏仅有0.0012%-0.01%的肝细胞进行有丝分裂,但肝脏被部分切除或受到化学毒物损伤后,肝脏中残余肝细胞表现出强大的再生能力。在正常情况下,人体肝脏在部分切除后,3 d内开始再生,6 mo后可恢复原肝质量。然而肝癌患者因其往往伴有肝硬化症状,硬变的肝脏行部分切除术后,其再生能力较正常肝脏明显减慢或延迟,对患者预后产生极为不利的影响^[12]。严重者甚至由于残余肝脏再生能力不足、肝脏正常生理功能无法恢复而死亡。再者,随着近年来器官移植技术的发展,活体肝移植术已被公认为治疗终末期肝脏疾病的有效方法,而该手术进行的前提是必须同时保证供体和受体的生命安全,因此肝脏部分切除后,残余肝组织能否迅速有效地生长直接影响患者的预后^[13]。此外研究还发现,随着年龄的增长,人体肝脏再生能力呈现明显下降趋势^[14]。因此,如何有效地提高残余肝脏的再生能力已成为当下研究热点。肝再生实际上是肝脏对于自身部分切除或受到外界毒物损伤后的一种适应性代偿反应,体内多种物质如细胞因子、转录因子、信号通路等参与其中,对肝再生过程起着重要的调控作用^[15]。

2 FXR

FXR于1995年被首次发现,因其可被甲羟戊酸代谢途径的中间代谢产物法尼醇激活而得名^[16]。FXR是核受体超家族成员之一,属于代谢性核受体,与其同类的还有肝脏X受体(liver X receptors, LXRs)、过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferators activated receptors, PPARs)、孕烷X受体(pregnenane X receptor, PXR)及组成性雄甾烷受体(constitutive androstane receptor, CAR)^[17]。核受体FXR在胆汁酸、脂质和糖代谢过程中发挥着重要的调节作用,近来还发现FXR通过调节肝再生过程中重要基因的表达,对肝再生过程也发挥着重要的调节作用。

2.1 FXR的结构、分布与分型 FXR的结构有如下特点: (1)具典型的核受体结构,主要由氨基端(N端)的非配体依赖激活域(ligand-independent activation function 1 domain, AF1)、DNA结合域(DNA-binding domain, DBD)、铰链区(hinge region)及羧基端(C端)的配体结合域(ligand-binding domain, LBD)构成,其中配体结合域LBD含有配体依赖激活域(ligand-dependent activation function 2 domain, AF2)^[18](图1A); (2)配体与FXR-LBD结合后,引起FXR空间构象的改变,使得FXR-DBD与FXR下游靶基因的调控区域中的FXR反应元件(FXR response element, FXRE)结合,从而调节靶基因的转录过程; (3)FXR反应元件FXRE为间隔一个或零个核苷酸的反向重复序列(inverted repeat elements separated by one or zero nucleotide, IR-1或IR-0), IR-1为主要的FXR结合序列^[19-22]。此外,FXR还可与正向重复序列(direct repeat, DR)和外翻重复序列(everted repeat, ER)结合^[23,24]; (4)FXR以视黄醇X受体(retinoic acid X receptor, RXR)形成异源二聚体或单体形式,与靶基因上的FXRE结合,从而调控下游靶基因的转录过程^[25-27]。多数情况下,FXR以FXR-RXR异源二聚体形式与下游靶基因上的FXRE结合,少数情况下以FXR单体与靶基因的反应元件结合,进而调控靶基因的转录过程(图1B)。

核受体FXR高表达于肝脏、肠道、肾脏及肾上腺,而在心脏和脂肪组织表达很少。目前,FXR基因已在人、大鼠和小鼠等多个物种成功克隆。人FXR基因位于12号染色体(12q23.1),有两种基因编码:FXR α (NR1H4)和FXR β (NR1H5),人FXR β 是假基因^[28]。人FXR基因通过选择性启动子和选择性剪接形成4种亚型:FXR α 1、

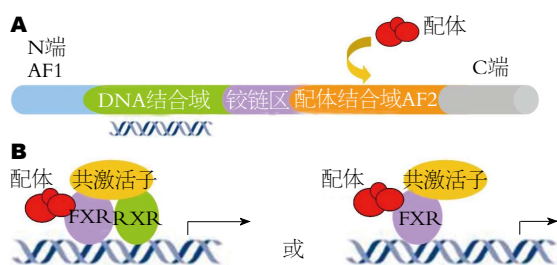


图1 FXR结构及作用方式。A: FXR结构; B: FXR作用方式。FXR: 法尼醇X受体; RXR: 视黄醇X受体。

FXR α 2、FXR β 1和FXR β 2.

2.2 FXR的配体 1999年, 研究者发现生理水平的胆汁酸是FXR的内源性配体, 因此核受体FXR又称为胆汁酸受体, 在维持胆汁酸体内平衡中发挥重要作用。鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid, CDCA)是FXR最为有效的激动剂。石胆酸(lithocholic acid, LCA)、去氧胆酸(desoxycholic acid, DCA)和胆酸(cholic acid, CA)都可以激活FXR, 但其激活效应弱于CDCA, 熊去氧胆酸(ursodesoxycholic acid, UDCA)不能激活FXR。胆汁酸激活FXR的作用由强到弱顺序是: CDCA>DCA>LCA>CA^[29]。一些多不饱和脂肪酸如花生四烯酸和二十二碳六烯酸, 以及胆汁酸代谢产物包括26-,25-羟基胆汁酸也被认为是FXR的配体。目前已发现的FXR人工合成的激动剂包括GW4064、6-乙基-鹅脱氧胆酸(6-ECDCA)、fexaramine、MFA-1、AGN29和AGN31等, 拮抗剂有guggulsterone、lithocholate、AGN34等^[30]。

3 FXR在肝再生过程中的重要作用

近年来, FXR在肝再生中的重要作用逐渐被阐明, 总结起来, 主要表现在3个方面: (1)FXR的激活可促进部分肝切除后肝细胞的增殖; (2)FXR在胆汁酸合成与转运过程中发挥重要的调节作用, 可减轻部分肝切除引起的肝组织损伤, 起到一定的肝保护作用; (3)FXR的代谢调节作用, 有益于肝再生进程。

3.1 FXR通过诱导FoxM1b的表达促进肝细胞增殖 肝脏在受到部分切除或损伤后, 正常的肝组织发生再生对于恢复肝脏的体积和功能非常重要。研究表明, 正常的肝脏再生是依赖并由FXR调节的。2006年, Huang等^[31]研究者将FXR基因敲除小鼠(FXR^{-/-})与野生小鼠比较, 发现FXR^{-/-}小鼠的肝再生率明显降低, 且5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU)标记阳性肝细胞数明显减少, 表明FXR^{-/-}小鼠处于DNA合

成期的肝细胞数减少, 肝细胞增殖减慢。此外还发现, 野生小鼠在被喂食FXR的配体0.2%胆酸后, 其肝再生率明显增加, 调控细胞周期进程的转录因子Forkhead box M1b(FoxM1b)表达增多。FoxM1b是一种上调细胞增殖的转录因子, 高表达于细胞周期G₁/S相, 通过抑制细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂p21和p27的表达, 进而上调细胞周期蛋白Cyclin D1、Cyclin E和Cyclin B1的表达, 使肝再生加速^[32-34]。上述结果表明, FXR在小鼠肝再生过程中发挥重要作用, 且此作用与其诱导FoxM1b表达有关, 但FoxM1b是FXR的直接或间接作用靶点尚不清楚。直至2010年, 核受体FXR的激活促进肝再生的机制终于被阐明。肝部分切除后, FXR的激活可直接与FoxM1b基因转录调控区域中的FXRE, 即IR-0结合, 诱导转录因子FoxM1b的表达, 从而对肝再生起到促进作用^[35,36]。

3.2 FXR调节胆汁酸的合成与转运, 减轻部分切除引起的肝损伤 肝脏被部分切除后, 胆汁酸压力相对于残余肝脏来说明显增加, 过多的胆汁酸可引起肝细胞的损伤。研究表明, FXR是胆汁酸的最初的感受器。部分肝切除后, 残余肝脏感受到比正常生理水平较多的胆汁酸刺激, 随后激活胆汁酸受体FXR, 激活的FXR可调节胆汁酸的合成、转运、代谢, 使肝细胞免受胆汁酸过多引发的肝损伤, 此肝保护功能将有助于肝再生的进行^[37]。

3.2.1 FXR的激活可抑制胆汁酸的合成: 胆汁酸是以胆固醇为原料在肝脏被合成的, 有两种合成途径: 经典途径和替代途径。经典途径是胆汁酸合成的主要途径, 胆固醇7 α 羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)为此途径胆汁酸合成的限速酶, CYP8B1也参与了胆汁酸的合成。核受体FXR的激活通过抑制CYP7A1和CYP8B1表达, 负反馈调节肝内胆汁酸的合成。此作用机制主要表现在两方面: (1)肝脏FXR的激活, 可诱导小分子异源二聚体伴侣(short heterodimer partner, SHP)的表达, 随后SHP与肝脏受体同系物1(liver receptor homolog 1, LRH-1)结合并使之灭活, 进而LRH-1下游基因CYP7A1的表达受到抑制^[38]。SHP还可与肝细胞核因子4 α (hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α)作用, 下调CYP7A1和CYP8B1表达^[39]。有报道, 0.2%胆酸使野生小鼠肝脏Shp表达增加, Cyp7A1表达减少; 而给予小鼠胆汁酸结合树脂可降低Shp表达, 升高Cyp7A1表达。此外, 野生小鼠部分肝

■ 相关报道

Huang等研究发现, 肝切除后超生理水平的胆汁酸可激活核受体FXR, FXR被激活后, 可负反馈抑制胆汁酸合成限速酶CYP7A1的表达, 进而减少肝内胆汁酸合成; 上调胆汁酸外排转运体BSEP表达, 增加胆汁酸的排泄, 从而降低部分切除后肝内胆汁酸负荷。

■创新盘点

本文简要概述了肝再生过程、FXR的基本性质包括其结构、分布、分型及配体,着重阐述了核受体FXR与肝再生的关系,并在此基础上进一步阐述了FXR激活促进肝脏再生的机制,对研发肝再生治疗的靶向药物有重要的指导意义。

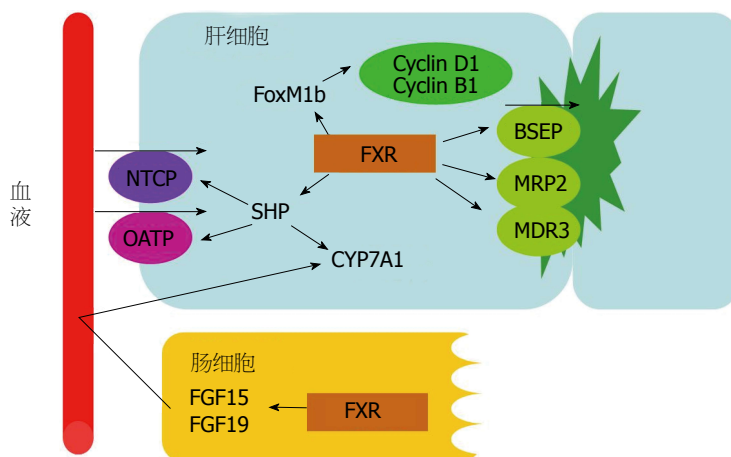


图2 核受体FXR对肝再生相关基因的调控。FXR: 法尼醇X受体; NTCP: 钠离子依赖性牛磺胆酸共转运多肽; OATP: 有机阴离子转运多肽; MRP: 多药耐药相关蛋白; SHP: 小分子异源二聚体伴侣。

切除后3 d内, Cyp7A1明显减少, 一直持续到肝切除后第7天; 而FXR^{-/-}小鼠部分肝切除后的第3天Cyp7A1表达就出现了。这些结果证实了核受体FXR的激活可间接地抑制Cyp7A1的表达, 减少肝内胆汁酸的合成^[31]; (2)肠道FXR的激活, 可诱导人肠道成纤维细胞生长因子19(fibroblast growth factor 19, FGF19)的表达或在小鼠诱导FGF15的产生, 随后FGF19/15结合于成纤维细胞生长因子受体4(fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4), 激活JNK依赖的信号通路, 抑制CYP7A1的表达。FXR的激活通过上述两方面抑制CYP7A1的表达, 从而减少肝细胞内胆汁酸的合成^[40-42]。此外, FXR通过诱导肝胰岛素诱导基因2(insulin-induced gene-2, *insig-2*), 抑制胆固醇合成限速酶HMG-CoA还原酶的表达, 从而抑制胆固醇的合成^[43]。可见, FXR的激活不仅能够直接抑制胆汁酸的合成, 还能抑制胆汁酸合成原料胆固醇的合成, 协同降低肝细胞内胆汁酸的合成。

3.2.2 FXR的激活可调节胆汁酸的转运: 胆汁酸在肝脏合成后被肝细胞胆管侧膜上的外排性转运体胆盐外排泵(bile salt export pump, BSEP)、多药耐药相关蛋白2(multidrug resistance-associated protein 2, MRP2)及多药耐药蛋白3(multidrug resistance protein 3, MDR3, 啮齿类动物Mdr2)泵入胆小管, 随胆汁进入小肠并被重新吸收入血, 随门脉血进入肝脏, 被肝细胞基底膜上的摄取性转运体钠离子依赖性牛磺胆酸共转运多肽(Na⁺-dependent taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)和有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptide, OATP)摄取进入肝细胞^[44]。核受体FXR的激活, 通过调节肝细胞外排性或摄取性转运体的表达, 进而影响肝细胞内胆汁酸水平和肝损伤情况。研究

发现, *BSEP*基因的启动子上有一个14 bp的反向重复序列IR-1: 5'-GGGACATTGATCCT-3', 核受体FXR激活后, 可与*BSEP*启动子上的FXR反应元件IR-1直接结合, 从而调控*BSEP*的基因转录^[22]。Yu等^[45]用人原代肝细胞考察了各种FXR配体对*BSEP*表达的影响, 发现CDCA和GW4064作用肝细胞3 h后, *BSEP*的基因表达明显升高, 且CDCA与*BSEP*基因表达呈时间及剂量依赖性。另有报道, 部分肝切除后, 与野生小鼠相比, FXR^{-/-}小鼠血中及肝中的胆汁酸含量明显增高, 肝损伤更为严重。原因在于野生小鼠肝部分切除后, 残肝内胆汁酸压力明显增高, 激活胆汁酸受体FXR, 诱导胆汁酸外排转运体BSEP表达, 从而降低了肝细胞内胆汁酸水平, 减轻了肝损伤。而FXR^{-/-}小鼠肝切除后, BSEP表达并无明显变化, 因此肝内胆汁酸水平居高不下, 肝损伤更为严重^[31]。核受体FXR的激活还可上调MRP2, MDR3/Mdr2的表达, 使肝内胆汁酸外排增多, 从而降低肝细胞内胆汁酸水平, 起到很好的保肝作用^[24,46]。此外, Zollner等^[47]证实, 核受体FXR激活通过诱导SHP的表达, 负反馈抑制NTCP的表达, 使进入肝细胞内的胆汁酸减少, 降低肝内胆汁酸水平。FXR还可抑制OATP的表达^[48]。FXR对NTCP和OATP的下调可减少肝细胞对胆汁酸的再摄取, 是避免部分肝切除后残肝细胞内胆汁酸超负荷的一种重要机制(图2)。

3.3 FXR的代谢调节作用有助于肝再生的进行 近年来, 许多研究者认为, 部分肝切除后残余肝脏增多的代谢需求是激活肝细胞增殖的重要信号。FXR作为代谢性核受体, 在胆汁酸、脂质、糖代谢过程中发挥着重要的调控作用, 此作用将有助于肝再生的进行^[49]。通过内源性或外源性物质对FXR的激活将有效地提高肝脏再生能力。

4 促肝再生药物的靶向治疗

目前国内外研究者正在积极地对肝再生机制做更为深入的研究, 以期发现更加安全有效的促肝再生的药物. 已发现具有促进肝再生作用的药物有: 促肝细胞生长素、双环醇、西地那非、促红细胞生成素及地胆草提取物等, 这些药物促肝再生作用的靶点主要集中在3个方面: (1)细胞因子, 如白介素(interleukin, IL)、转化生长因子- β 家族(transforming growth factor- β , TGF- β)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)及表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等; (2)转录因子, 包括核受体PXR、CAR等; (3)信号通路: HGF/c-met信号通路等. 药物通过影响这些因子的功能而对肝再生过程发挥调节作用, 然而这些药物促肝再生的疗效一般, 或有较严重的不良反应.

核受体FXR可被内源性和外源性配体激活, 因此成为理想的药物作用靶点^[50-52]. 实际上, 美国FDA批准上市的药物中有13%作用靶点在核受体, 被广泛用于治疗代谢综合征、炎症和癌症^[53-55]. 近年来, 针对FXR作用靶点的药物研究日趋受到国内外研究者的关注^[56-57]. 目前, FXR激动剂6ECDCA(INT-747)已进行II期临床试验, 用于治疗原发性胆汁性肝硬化、非酒精性脂肪肝和2型糖尿病^[58-60]. WAY362450(FXR 450)用于降血脂的治疗^[60]. 为了研发安全有效的促肝再生药物, 为了有的放矢地从理论上、实践上阐明药物的作用机制, 同时为了提高新药开发的成功率, 越来越多的药物研究者跻身于药物促肝再生作用与核受体FXR相关性的研究中. 相信不久的将来, FXR激动剂很可能用于活体肝脏移植或肝癌切除术后肝脏再生的治疗中. 应用FXR激动剂促进肝脏再生有以下诸多优点: (1)FXR的激活可直接促进肝脏再生; (2)可降低胆汁酸的肝细胞毒性, 预防细胞凋亡; (3)FXR的激活将改善肝脏代谢功能. 因此在不远的将来, 开发有效的、安全的FXR配体进入临床试验, 将加快肝脏部分切除术后患者肝脏再生的速度.

5 结论

核受体FXR的功能已从最初的调控多种物质的代谢途径扩展到调节肝细胞增殖过程. FXR的促进肝脏再生的新作用, 主要表现在: (1)部分肝切除后, 肝脏FXR被比生理水平高的胆汁酸所激活, 通过诱导FoxM1b的表达, 调控细胞周期进程, 进而促进肝细胞增殖; (2)肝脏和肠道FXR

的激活, 通过下调胆汁酸合成限速酶CYP7A1表达, 使胆汁酸合成减少; 通过上调胆汁酸外转运体BSEP、MRP2和MDR3/Mdr2的表达, 增加胆汁酸的外排, 并且下调肝细胞摄取性转运体NTCP和OATP的表达, 使进入肝细胞的胆汁酸减少, 从而降低了部分肝切除后增多的胆汁酸对肝细胞的损伤, 此作用将有助于肝脏再生过程. 核受体FXR激活所表现出的多方面调节胆汁酸的合成、转运与代谢作用, 与以往报道的FXR调节胆汁酸代谢和防止胆汁酸毒性的功能相一致; (3)FXR的代谢调节作用, 将满足部分肝切除后残余肝脏增多的代谢需求, 有益于肝再生的进行.

总之, 核受体FXR在肝脏再生过程中发挥着必不可少的调控作用, 同时也是重要的细胞保护者. 不久的将来, FXR激动剂很可能用于肝脏部分移植或肝癌切除术后肝脏再生的治疗中. 我们期待研究者们继续致力于FXR多方面功能的深入研究, 这将有助于我们更好地理解肝脏再生的复杂机制及开发更加安全有效的促肝再生靶向药物.

6 参考文献

- 1 Brouquet A, Andreou A, Shindoh J, Vauthey JN. Methods to improve resectability of hepatocellular carcinoma. *Recent Results Cancer Res* 2013; 190: 57-67 [PMID: 22941013 DOI: 10.1007/978-3-642-16037-0_4]
- 2 Mavros MN, Mayo SC, Hyder O, Pawlik TM. A systematic review: treatment and prognosis of patients with fibrolamellar hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg* 2012; 215: 820-830 [PMID: 22981432 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.08.001]
- 3 Helling TS. Liver failure following partial hepatectomy. *HPB (Oxford)* 2006; 8: 165-174 [PMID: 18333270 DOI: 10.1080/13651820510035712]
- 4 Jonker JW, Liddle C, Downes M. FXR and PXR: potential therapeutic targets in cholestasis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012; 130: 147-158 [PMID: 21801835 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2011.06.012]
- 5 Cipriani S, Mencarelli A, Palladino G, Fiorucci S. FXR activation reverses insulin resistance and lipid abnormalities and protects against liver steatosis in Zucker (fa/fa) obese rats. *J Lipid Res* 2010; 51: 771-784 [PMID: 19783811 DOI: 10.1194/jlr.M001602]
- 6 Bays HE, Goldberg RB, Truitt KE, Jones MR. Colesevelam hydrochloride therapy in patients with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: glucose and lipid effects. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1975-1983 [PMID: 18852398 DOI: 10.1001/archinte.168.18.1975]
- 7 Vignozzi L, Morelli A, Filippi S, Comeglio P, Chavalmane AK, Marchetta M, Toce M, Yehiely-Cohen R, Vannelli GB, Adorini L, Maggi M. Farnesoid X receptor activation improves erectile function in animal models of metabolic syndrome and diabetes. *J Sex Med* 2011; 8: 57-77 [PMID: 20955313]

■应用要点

FXR可能作为促肝再生药物的治疗靶点, FXR激动剂配体的应用很可能成为肝脏部分移植或肝癌切除术后肝脏再生的潜在方法, 有望加快肝部分切除患者的肝脏再生速度.

■同行评价

本文为肝癌切除或肝移植术后的肝再生治疗提供了新的思路,具有较好的创新性和应用价值。

- DOI: 10.1111/j.1743-6109.2010.02073.x]
- 8 Morelli A, Vignozzi L, Maggi M, Adorini L. Farnesoid X receptor activation improves erectile dysfunction in models of metabolic syndrome and diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 859-866 [PMID: 21056655 DOI: 10.1016/j.bbadis.2010.10.013]
- 9 Zhang L, Wang YD, Chen WD, Wang X, Lou G, Liu N, Lin M, Forman BM, Huang W. Promotion of liver regeneration/repair by farnesoid X receptor in both liver and intestine in mice. *Hepatology* 2012; 56: 2336-2343 [PMID: 22711662 DOI: 10.1002/hep.25905]
- 10 Borude P, Edwards G, Walesky C, Li F, Ma X, Kong B, Guo GL, Apte U. Hepatocyte-specific deletion of farnesoid X receptor delays but does not inhibit liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Hepatology* 2012; 56: 2344-2352 [PMID: 22730081 DOI: 10.1002/hep.25918]
- 11 Chen WD, Wang YD, Meng Z, Zhang L, Huang W. Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 888-892 [PMID: 21167938 DOI: 10.1016/j.bbadis.2010.12.006]
- 12 Takami T, Terai S, Sakaida I. Stem cell therapy in chronic liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 203-208 [PMID: 22395569 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283521d6a]
- 13 Gehrau RC, Mas VR, Maluf DG. Hepatic disease biomarkers and liver transplantation: what is the potential utility of microRNAs? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 157-170 [PMID: 23363264 DOI: 10.1586/egh.12.71]
- 14 de la Fuente SG, Bennett KM, Scarborough JE. Functional status determines postoperative outcomes in elderly patients undergoing hepatic resections. *J Surg Oncol* 2013; 107: 865-870 [PMID: 23585324 DOI: 10.1002/jso.23335]
- 15 Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43: S45-S53 [PMID: 16447274 DOI: 10.1002/hep.20969]
- 16 Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, Noonan DJ, Burka LT, McMorris T, Lamph WW, Evans RM, Weinberger C. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* 1995; 81: 687-693 [PMID: 7774010 DOI: 10.1016/0092-8674(95)90530-8]
- 17 Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. General molecular biology and architecture of nuclear receptors. *Curr Top Med Chem* 2012; 12: 486-504 [PMID: 22242852 DOI: 10.2174/156802612799436641]
- 18 Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science* 2001; 294: 1866-1870 [PMID: 11729302 DOI: 10.1126/science.294.5548.1866]
- 19 Chong HK, Infante AM, Seo YK, Jeon TI, Zhang Y, Edwards PA, Xie X, Osborne TF. Genome-wide interrogation of hepatic FXR reveals an asymmetric IR-1 motif and synergy with LRH-1. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 6007-6017 [PMID: 20483916 DOI: 10.1093/nar/gkq397]
- 20 Song CS, Echchgadda I, Baek BS, Ahn SC, Oh T, Roy AK, Chatterjee B. Dehydroepiandrosterone sulfotransferase gene induction by bile acid activated farnesoid X receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 42549-42556 [PMID: 11533040 DOI: 10.1074/jbc.M107557200]
- 21 Li J, Pircher PC, Schulman IG, Westin SK. Regulation of complement C3 expression by the bile acid receptor FXR. *J Biol Chem* 2005; 280: 7427-7434 [PMID: 15590640 DOI: 10.1074/jbc.M411473200]
- 22 Ananthanarayanan M, Balasubramanian N, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Suchy FJ. Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 28857-28865 [PMID: 11387316 DOI: 10.1074/jbc.M011610200]
- 23 Mak PA, Kast-Woelbern HR, Anisfeld AM, Edwards PA. Identification of PLTP as an LXR target gene and apoE as an FXR target gene reveals overlapping targets for the two nuclear receptors. *J Lipid Res* 2002; 43: 2037-2041 [PMID: 12454263 DOI: 10.1194/jlr.C200014-JLR200]
- 24 Kast HR, Goodwin B, Tarr PT, Jones SA, Anisfeld AM, Stoltz CM, Tontonoz P, Kliewer S, Willson TM, Edwards PA. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor. *J Biol Chem* 2002; 277: 2908-2915 [PMID: 11706036 DOI: 10.1074/jbc.M109326200]
- 25 Vaquero J, Briz O, Herraez E, Muntané J, Marin JJ. Activation of the nuclear receptor FXR enhances hepatocyte chemoprotection and liver tumor chemoresistance against genotoxic compounds. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 2212-2219 [PMID: 23680185 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.05.006]
- 26 Ohno T, Shirakami Y, Shimizu M, Kubota M, Sakai H, Yasuda Y, Kochi T, Tsurumi H, Moriwaki H. Synergistic growth inhibition of human hepatocellular carcinoma cells by acyclic retinoid and GW4064, a farnesoid X receptor ligand. *Cancer Lett* 2012; 323: 215-222 [PMID: 22579649 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.04.01]
- 27 de Lera AR, Bourguet W, Altucci L, Gronemeyer H. Design of selective nuclear receptor modulators: RAR and RXR as a case study. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 811-820 [PMID: 17906643 DOI: 10.1038/nrd2398]
- 28 Cai SY, Xiong L, Wray CG, Ballatori N, Boyer JL. The farnesoid X receptor FXRalpha/NR1H4 acquired ligand specificity for bile salts late in vertebrate evolution. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293: R1400-R1409 [PMID: 17567710 DOI: 10.1152/ajpregu.00781.2006]
- 29 Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, Chandra G, Consler TG, Kliewer SA, Stimmel JB, Willson TM, Zavacki AM, Moore DD, Lehmann JM. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science* 1999; 284: 1365-1368 [PMID: 10334993 DOI: 10.1126/science.284.5418.1365]
- 30 Wang YD, Chen WD, Moore DD, Huang W. FXR: a metabolic regulator and cell protector. *Cell Res* 2008; 18: 1087-1095 [PMID: 18825165 DOI: 10.1038/cr.2008.289]
- 31 Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, Dong B, Huang X, Moore DD. Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science* 2006; 312: 233-236 [PMID: 16614213 DOI: 10.1126/science.1121435]
- 32 Wang X, Kiyokawa H, Dennewitz MB, Costa RH. The Forkhead Box m1b transcription factor is essential for hepatocyte DNA replication and mitosis during mouse liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 16881-16886 [PMID: 12482952 DOI: 10.1073/pnas.252570299]

- 33 Wang X, Krupczak-Hollis K, Tan Y, Dennewitz MB, Adami GR, Costa RH. Increased hepatic Forkhead Box M1B (FoxM1B) levels in old-aged mice stimulated liver regeneration through diminished p27Kip1 protein levels and increased Cdc25B expression. *J Biol Chem* 2002; 277: 44310-44316 [PMID: 12221098 DOI: 10.1074/jbc.M207510200]
- 34 Wang X, Quail E, Hung NJ, Tan Y, Ye H, Costa RH. Increased levels of forkhead box M1B transcription factor in transgenic mouse hepatocytes prevent age-related proliferation defects in regenerating liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 11468-11473 [PMID: 11572993 DOI: 10.1073/pnas.201360898]
- 35 Chen WD, Wang YD, Zhang L, Shiah S, Wang M, Yang F, Yu D, Forman BM, Huang W. Farnesoid X receptor alleviates age-related proliferation defects in regenerating mouse livers by activating forkhead box m1b transcription. *Hepatology* 2010; 51: 953-962 [PMID: 19998409 DOI: 10.1002/hep.23390]
- 36 于昊, 崔云甫. FXR促进肝脏再生作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2173-2178
- 37 梁科伟, 袁晨光. 胆汁酸与肝再生. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2340-2345
- 38 Goodwin B, Jones SA, Price RR, Watson MA, McKee DD, Moore LB, Galardi C, Wilson JG, Lewis MC, Roth ME, Maloney PR, Willson TM, Kliewer SA. A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. *Mol Cell* 2000; 6: 517-526 [PMID: 11030332 DOI: 10.1016/S1097-2765(00)00051-4]
- 39 Fiorucci S, Mencarelli A, Distrutti E, Palladino G, Cipriani S. Targeting farnesoid-X-receptor: from medicinal chemistry to disease treatment. *Curr Med Chem* 2010; 17: 139-159 [PMID: 19941473 DOI: 10.2174/092986710790112666]
- 40 Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, Luo G, Jones SA, Goodwin B, Richardson JA, Gerard RD, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2005; 2: 217-225 [PMID: 16213224 DOI: 10.1016/j.cmet.2005.09.001]
- 41 Holt JA, Luo G, Billin AN, Bisi J, McNeill YY, Kozarsky KF, Donahue M, Wang DY, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev* 2003; 17: 1581-1591 [PMID: 12815072 DOI: 10.1101/gad.1083503]
- 42 Li T, Matozel M, Boehme S, Kong B, Nilsson LM, Guo G, Ellis E, Chiang JY. Overexpression of cholesterol 7 α -hydroxylase promotes hepatic bile acid synthesis and secretion and maintains cholesterol homeostasis. *Hepatology* 2011; 53: 996-1006 [PMID: 21319191 DOI: 10.1002/hep.24107]
- 43 Hubbert ML, Zhang Y, Lee FY, Edwards PA. Regulation of hepatic Insig-2 by the farnesoid X receptor. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1359-1369 [PMID: 17440045 DOI: 10.1210/me.2007-0089]
- 44 孟强, 刘克辛. 转运体在肝脏中的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 881-886
- 45 Yu J, Lo JL, Huang L, Zhao A, Metzger E, Adams A, Meinke PT, Wright SD, Cui J. Lithocholic acid decreases expression of bile salt export pump through farnesoid X receptor antagonist activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 31441-31447 [PMID: 12052824 DOI: 10.1074/jbc.M200474200]
- 46 Huang L, Zhao A, Lew JL, Zhang T, Hrywna Y, Thompson JR, de Pedro N, Royo I, Blevins RA, Peláez F, Wright SD, Cui J. Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3. *J Biol Chem* 2003; 278: 51085-51090 [PMID: 14527955]
- 47 Zollner G, Wagner M, Fickert P, Geier A, Fuchsbi-chler A, Silbert D, Gumhold J, Zatloukal K, Kaser A, Tilg H, Denk H, Trauner M. Role of nuclear receptors and hepatocyte-enriched transcription factors for Ntcp repression in biliary obstruction in mouse liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G798-G805 [PMID: 16002565 DOI: 10.1152/ajpgi.00319.2004]
- 48 Cui YJ, Aleksunes LM, Tanaka Y, Goedken MJ, Klaassen CD. Compensatory induction of liver efflux transporters in response to ANIT-induced liver injury is impaired in FXR-null mice. *Toxicol Sci* 2009; 110: 47-60 [PMID: 19407337 DOI: 10.1093/toxsci/kfp094]
- 49 Liu Y, Binz J, Numerick MJ, Dennis S, Luo G, Desai B, MacKenzie KI, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist GW4064 in rat models of intra- and extrahepatic cholestasis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1678-1687 [PMID: 14623915]
- 50 Lonard DM, O'malley BW. Nuclear receptor co-regulators: judges, juries, and executioners of cellular regulation. *Mol Cell* 2007; 27: 691-700 [PMID: 17803935 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.08.012]
- 51 Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schütz G, Umesono K, Blumberg B, Kastner P, Mark M, Chambon P, Evans RM. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83: 835-839 [PMID: 8521507 DOI: 10.1016/0092-8674(95)90199-X]
- 52 Nagy L, Schwabe JW. Mechanism of the nuclear receptor molecular switch. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 317-324 [PMID: 15276186 DOI: 10.1016/j.tibs.2004.04.006]
- 53 Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins AL. How many drug targets are there? *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 993-996 [PMID: 17139284 DOI: 10.1038/nrd2199]
- 54 Altucci L, Leibowitz MD, Ogilvie KM, de Lera AR, Gronemeyer H. RAR and RXR modulation in cancer and metabolic disease. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 793-810 [PMID: 17906642 DOI: 10.1038/nrd2397]
- 55 Jordan VC, Brodie AM. Development and evolution of therapies targeted to the estrogen receptor for the treatment and prevention of breast cancer. *Steroids* 2007; 72: 7-25 [PMID: 17169390 DOI: 10.1016/j.steroids.2006.10.009]
- 56 Zimmer A, Gespach C. Bile acids and derivatives, their nuclear receptors FXR, PXR and ligands: role in health and disease and their therapeutic potential. *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8: 540-563 [PMID: 18537536 DOI: 10.2174/187152008784533008]
- 57 Fiorucci S, Baldelli F. Farnesoid X receptor agonists in biliary tract disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 252-259 [PMID: 19300246 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328324f87e]
- 58 Fiorucci S, Mencarelli A, Distrutti E, Zampella A. Farnesoid X receptor: from medicinal chemistry to clinical applications. *Future Med Chem* 2012; 4: 877-891 [PMID: 22571613 DOI: 10.4155/fmc.12.41]
- 59 Lindor KD. Farnesoid X receptor agonists for

- primary biliary cirrhosis. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 285-288 [PMID: 21297469 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32834452c8]
- 60 Evans MJ, Mahaney PE, Borges-Marcucci L, Lai K, Wang S, Krueger JA, Gardell SJ, Huard C, Martinez

R, Vlasuk GP, Harnish DC. A synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist promotes cholesterol lowering in models of dyslipidemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G543-G552 [PMID: 19136377 DOI: 10.1152/ajpgi.90585.2008]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

miR-96对胃癌细胞侵袭迁移的影响

毛盛勋, 周智勇, 何楠, 尹成龙, 曹家庆

毛盛勋, 周智勇, 何楠, 尹成龙, 曹家庆, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

毛盛勋, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床及基础研究.

作者贡献分布: 此课题由毛盛勋设计; 研究过程由周智勇、何楠及尹成龙操作完成; 研究所需标本由周智勇收集; 数据收集与分析由曹家庆完成; 本论文写作由毛盛勋完成.

通讯作者: 毛盛勋, 副教授, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科.

maoshengxun@126.com

收稿日期: 2013-08-31 修回日期: 2013-09-21

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Role of miR-96 in invasion and migration of gastric cancer cells

Sheng-Xun Mao, Zhi-Yong Zhou, Nan He, Cheng-Long Yin, Jia-Qing Cao

Sheng-Xun Mao, Zhi-Yong Zhou, Nan He, Cheng-Long Yin, Jia-Qing Cao, Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Sheng-Xun Mao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. maoshengxun@126.com

Received: 2013-08-31 Revised: 2013-09-21

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To detect the expression of miR-96 in gastric cancer tissues and investigate the regulatory effect of miR-96 ASO on the invasion and migration of gastric cancer cells *in vitro*.

METHODS: The expression of miR-96 in 122 gastric cancer tissues and their adjacent tissues was detected by real-time quantitative PCR. After transfection of gastric cancer cells with miR-96 ASO, an miR-96 antisense oligonucleotide, the biological effects of miR-96 was measured by transwell assay and wound healing assay, and invasion-related protein expression was analyzed by Western blot.

RESULTS: MiR-96 was found to be overexpressed in 62.30% (76/122) of the gastric cancer cases ($P < 0.05$). MiR-96 expression in gastric cancer cells transfected with miR-96 ASO was

significantly lower than that in control cells ($P < 0.05$). Transwell and wound healing assay results showed that cell invasion and migration were decreased greatly after transfection with miR-96 ASO. Furthermore, down-regulation of miR-96 resulted in obvious inactivation of MMP2 and MMP9 ($P < 0.05$).

CONCLUSION: MiR-96 is overexpressed in human gastric cancer. Reducing the expression of miR-96 can effectively inhibit the invasion and migration of gastric cancer cells. MiR-96 may become a new target for the regulation of invasion and migration of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA-96; Gastric cancer; Invasion; Migration; Antisense oligonucleotides

Mao SX, Zhou ZY, He N, Yin CL, Cao JQ. Role of miR-96 in invasion and migration of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3775-3782 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3775.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3775>

摘要

目的: 分析MicroRNA-96(miR-96)在胃癌组织中的表达情况; 体外研究miR-96反义寡核苷酸技术(antisense oligonucleotide, ASO)对胃癌细胞侵袭和迁移的影响.

方法: 运用荧光定量PCR检测122例胃癌组织及对应正常组织中miR-96的表达; 通过miR-96 ASO降低胃癌细胞中miR-96的表达, 采用Transwell实验和划痕实验观察miR-96 ASO对胃癌细胞侵袭和迁移能力的影响, 同时运用Western blot的方法检测侵袭相关蛋白的表达变化.

结果: 在122例胃癌病例中, 62.30%(76/122)的胃癌组织miR-96表达明显高于对应正常组织($P < 0.05$); 与空白对照组和转染无义ASO组相比, miR-96 ASO可以显著降低miR-96的表达($P < 0.05$); Transwell实验和划痕实验结果显示

■背景资料

MicroRNAs(miRNA)是一种内源性的非编码小分子RNA, 可以在转录后水平调节蛋白质的合成, 广泛分布于生物细胞体内. 大量研究已经证实miRNA在恶性肿瘤细胞的发生、发展中发挥重要作用, 其中包括调控细胞的增殖、分化、凋亡以及侵袭和转移.

■同行评议者

刘炳亚, 研究员, 上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

■ 研发前沿

近年来研究发现miRNAs与恶性肿瘤关系密切,与多种恶性肿瘤的发生及侵袭转移相关。因此miRNAs可能成为诊断肿瘤的新的分子标志和判断肿瘤治疗及预后的分子靶点,而且miRNAs在转录后水平调节靶基因的表达,这更有助于肿瘤的早发现、早诊断和早治疗。

转染miR-96 ASO后,胃癌细胞的侵袭迁移能力明显下降,同时相关侵袭蛋白基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)和MMP9表达下降($P<0.05$)。

结论: miR-96在胃癌组织中表达上调,降低miR-96的表达可有效抑制胃癌细胞的侵袭和迁移。miR-96有可能成为胃癌侵袭转移调控的新靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: miR-96; 胃癌; 侵袭; 迁移; 反义单核苷酸

核心提示: MicroRNA-96(miR-96)通过调控基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)和MMP9的表达而对肿瘤细胞侵袭迁移产生影响。

毛盛勋, 周智勇, 何楠, 尹成龙, 曹家庆. miR-96对胃癌细胞侵袭迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3775-3782
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3775.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3775>

0 引言

MicroRNAs(miRNA)是一种内源性的非编码小分子RNA,可以在转录后水平调节蛋白质的合成,广泛分布于生物细胞体内。大量研究已经证实miRNA在恶性肿瘤细胞的发生、发展中发挥重要作用,其中包括调控细胞的增殖、分化、凋亡以及侵袭和转移^[1-10]。研究报道miR-96在乳腺癌及结肠癌等恶性肿瘤中表达上调^[11-23]。过表达miR-96的表达可以促进在乳腺癌细胞的增殖^[23]。然而miR-96对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响尚未见报道。本实验采用荧光定量PCR检测miR-96在胃癌组织中的表达情况,同时利用反义寡核苷酸技术(antisense oligonucleotide, ASO)抑制miR-96在胃癌细胞中的表达,分析miR-96对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响,同时检查侵袭相关蛋白基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)和MMP9蛋白的表达变化。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-09/2012-05南昌大学第二附属医院胃肠外科122例胃癌及对应癌旁组织手术标本,所有标本均经病理学检查确诊,其中男76例,女46例,年龄39-72岁。所有患者术前均未接受放化疗。胃癌SGC7901和MGC-803细胞由本实验室保存; TaqMan miRNA分析试剂盒(美国ABI公司); DMEM高糖培养基(美国

Gibco公司)、胎牛血清(美国Hyclone公司)、脂质体Lipfectamine 2000(美国Invitrogen公司); 反义miR-96寡核苷酸(miR-96 ASO)(大连宝生物公司); 总蛋白提取试剂盒(北京普利莱)、兔抗人MMP2和MMP9单克隆抗体(美国Santa Cruz公司)、 β -actin二抗(北京中杉金桥公司); Transwell Chamber(美国Chemicon公司); Matrigel胶(美国BD公司); 荧光定量PCR分析仪7500(美国ABI公司)。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量PCR检测miR-96的表达: 采用RNA提取试剂提取瘤组织及对应正常组织中总RNA,测定浓度, -80°C 保存。运用miRNA分析试剂盒检测miR-96的表达。首先取2 μg 总RNA为反应模板与3 μL 逆转录酶相互混合,反应体系为20 μL ,反应条件为: 16°C 30 min, 45°C 30 min, 85°C 5min。反应结束后,收集cDNA。采用SYBR Green法定量检测,将质粒稀释品分别梯度稀释为 1×10^{-1} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 和 1×10^{-8} ,用于建立标准曲线。反应条件: 95°C 15min; 95°C 30 s, 60°C 30 s, 72°C 30 s,共45个循环,最后 72°C 延伸7 min。在每个循环的最后增加溶解曲线。阈值定义为基础荧光信号的10个标准差,即时循环数为Ct,依据标准曲线计算目的基因的mRNA量。实验重复3次。

1.2.2 反义miR-96单核苷酸序列设计: 获取人miR-96的序列(<http://www.sanger.ac.uk/software/Rfam/mirna>),设计其反义寡核苷酸序列,运用NCBI BLAST检索程序以排除其他的同源序列。另外,同时设计一条无义阴性对照序列,如下所示: miR-96 sense: 5'-AGUCACUAGUGGUUCC-GUUUA-3',反义miR-96 antisense: 5'-TAAAC-GGAACCACTAGTGACT-3',无义序列sense: 5'-UCUUCGGAACGUGUCACGUTT-3', antisense: 5'-AAGUGACACGUUCGGAGAATT-3',由上海英骏生物技术公司合成。

1.2.3 细胞培养和反义寡核苷酸转染: 将SGC7901和MGC-803胃癌细胞接种于10%胎牛血清DMEM培养基, 37°C 、5% CO_2 条件下培养。运用LipfectamineTM 2000转染试剂盒进行转染,反义miR-96寡核苷酸终浓度分别为: 50、100、150、200和250 nmol/L。本实验组筛选出最佳终干扰浓度为150 nmol/L。转染后培养时间分别为24、48、72 h,初步筛选出最佳作用时间为48 h。上述操作重复3次。

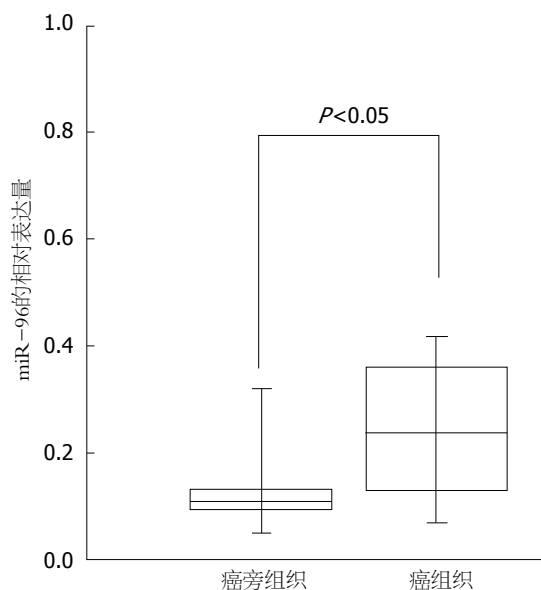


图1 实时荧光定量PCR检测122例患者胃癌及对应的癌旁组织miR-96表达的盒状图。

1.2.4 转染miR-96 ASO后对miR-96表达的影响: 实验分为空白对照组、无义ASO和miR-96。转染终浓度为150 nmol/L的miR-96 ASO 48 h后, 提取总RNA, 测定浓度, 逆转录为cDNA(反应条件同1.2.1), 测定cDNA浓度。运用microRNA检测试剂盒检测miR-96的表达(具体条件同1.2.1)。上述操作重复3次。

1.2.5 Transwell侵袭实验: Transwell小室的上下室之间以孔径为8 μm 的聚碳酸酯微膜孔分隔开, 滤膜上层铺盖人工基底胶(Matrigel)。实验开始前将Transwell小室复温至37 $^{\circ}\text{C}$, 在内室中加入300 μL 的DMEM培养液, 置于培养箱中孵育2 h, 使Matrigel水化。用胰酶消化细胞成单细胞悬液, 800 r/min离心5 min, 收集细胞, 用PBS洗涤细胞两次, 最后用无血清的DMEM培养基重悬细胞, 调整细胞数为 1.0×10^6 个/mL。吸出内室中培养液, 吸取500 μL 含10%血清的DMEM于外室中作为趋化因子, 加300 μL 细胞悬液于内室中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养24 h。取出Transwell小室吸除培养基, 利用棉签擦净Transwell小室滤膜上层的Matrigel及未穿过滤膜的细胞。将小室浸入细胞染色液中染色20 min, 采用蒸馏水冲洗, 风干。实验分组同1.2.4, 每次同时做3个重复小室, 显微镜观察计数, 取平均值。

1.2.6 Transwell迁移实验: 实验分组同1.2.4。具体过程与Transwell侵袭实验基本一致, 不同的是Transwell迁移实验不需要铺Matrigel。

1.2.7 划痕实验: 实验分组同1.2.4。采用Marker笔在6孔板背面均匀划横线, 约0.5-1.0 cm宽, 横

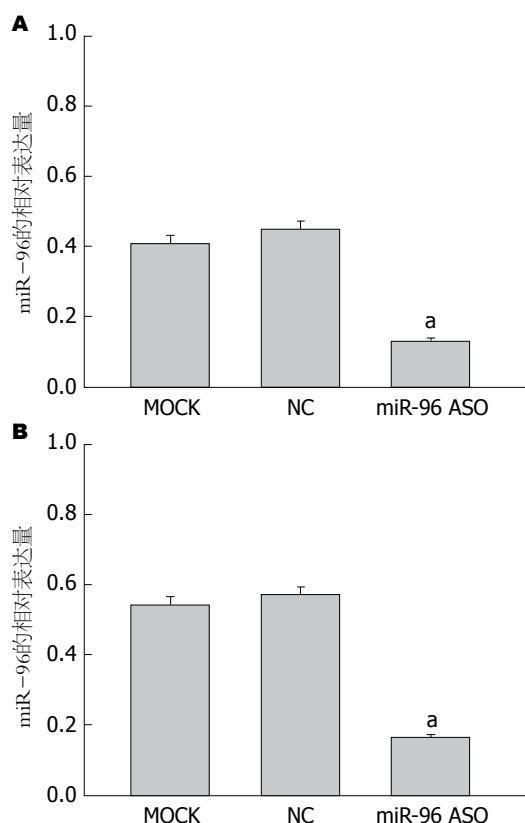


图2 转染miR-96 ASO后, SGC7901和MGC-803细胞miR-96的表达变化。A: SGC7901; B: MGC-803。* $P < 0.05$ vs MOCK, NC。ASO: 反义寡核苷酸技术。

穿过孔, 每孔至少穿过5条线。在孔中加入约 5×10^5 个细胞, 掌握为过夜细胞能铺满整孔。第2天利用10 μL 枪头依横线划痕, 注意枪头垂直。PBS洗细胞3次, 去除划下的细胞, 加入培养基。置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养。0、48 h取样, 在显微镜拍照。每个样本至少重复3次。

1.2.8 检测各组细胞中MMP2和MMP9蛋白表达: 实验分组同1.2.4。收集各组SGC7901和MGC-803细胞, 运用总蛋白提取试剂盒提取各组细胞中的总蛋白, 经10%SDS-PAGE电泳后转膜, 将膜放在含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭2 h, 加一抗稀释液1:400稀释兔抗人MMP2和MMP9单克隆抗体在4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 1 \times TBST缓冲液3次(每次10 min), 加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG(1:5000稀释), 置于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h, 1 \times TBST缓冲液3次(每次10 min), 运用ECL化学发光法检测目的蛋白条带。以 β -actin作为内参。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行分析。计量资料以mean \pm SD表示, 癌及癌旁组织比较采用配对样本 t 检验, 多组均数之间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

■ 相关报道

研究报道miR-96在乳腺癌及结肠癌等恶性肿瘤中表达上调, 过表达miR-96的表达可以促进在乳腺癌细胞的增殖。然而miR-96对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响尚未见报道。

■ 创新盘点

本实验首次检测 miR-96 在胃癌组织中的表达情况;首次分析 miR-96 对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响;首次分析 miR-96 与 MMP2 和 MMP9 蛋白的关联。

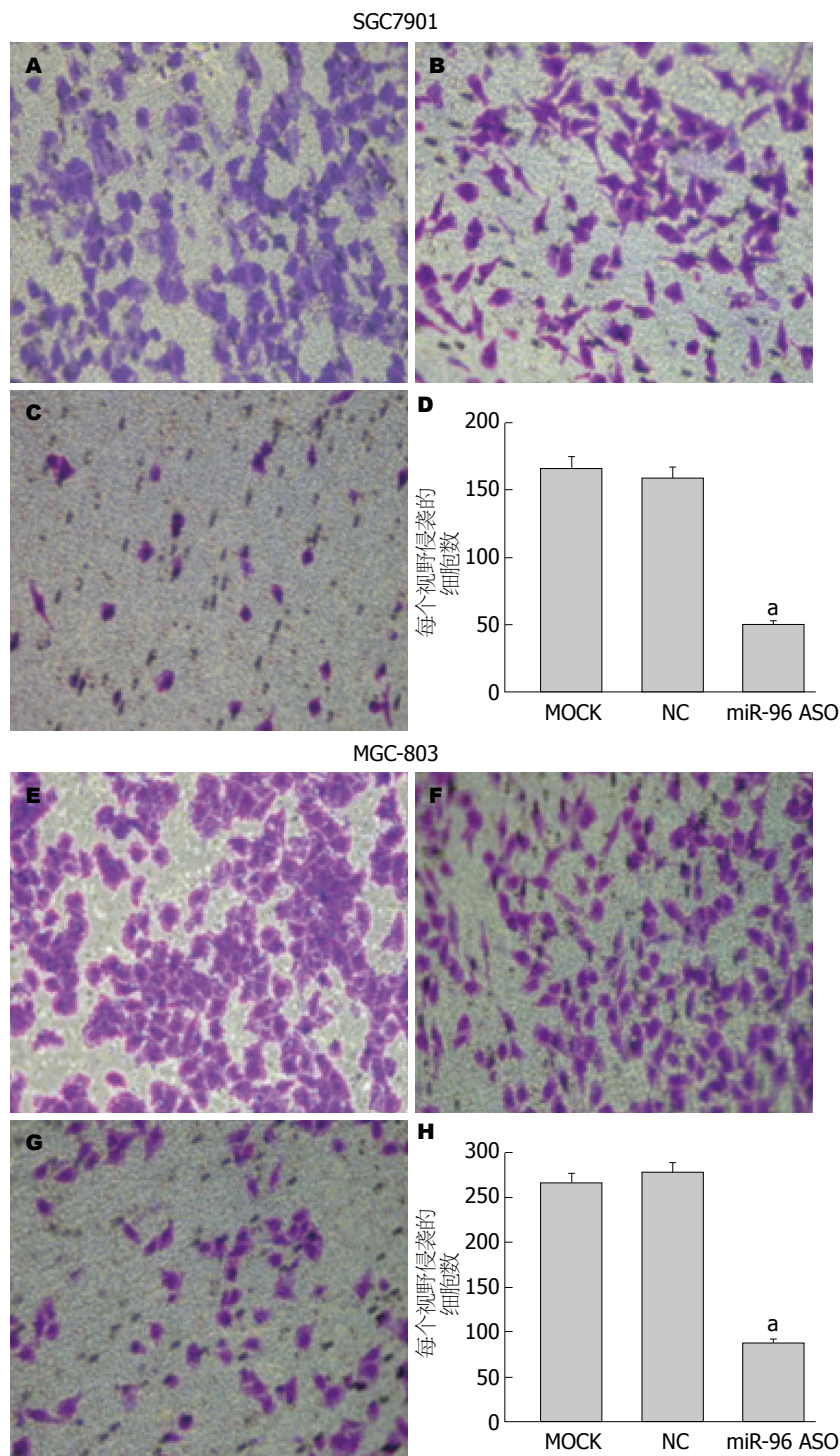


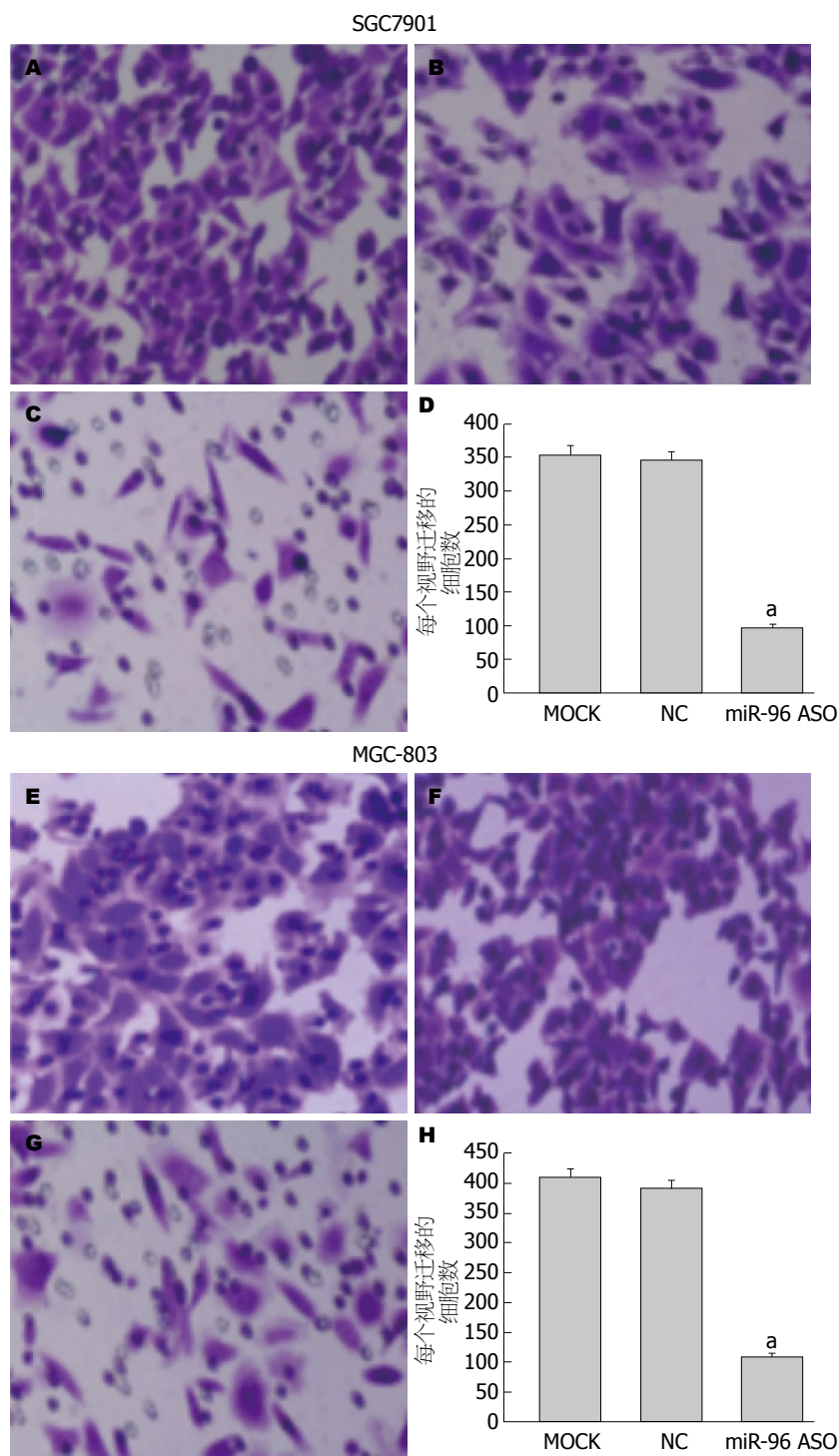
图3 转染miR-96 ASO后, SGC7901和MGC-803细胞的侵袭能力明显下降. A, E: MOCK; B, F: NC; C, G: miR-96 ASO. ^a $P < 0.05$ vs MOCK, NC. ASO: 反义寡核苷酸技术。

2 结果

2.1 胃癌组织miR-96的表达情况 运用实时荧光定量PCR检测122例胃癌患者癌及癌旁组织中miR-96的表达情况, 结果发现: 62.30%(76/122)病例胃癌组织miR-96的表达明显高于相对应的正常癌旁组织, 结果有统计学意义($t = 29.21$, $P < 0.05$)(图1)。其他37.70%(46/122)病例胃癌组织miR-96的表达未见明显增高($t = 0.23$, $P > 0.05$)。

2.2 转染miR-96 ASO后对miR-96表达的影响

荧光定量PCR方法检测结果发现: SGC7901细胞转染miR-96 ASO组miR-96的相对表达量较空白对照组和转染无义ASO组明显降低(组间 $F = 391.66$, $P < 0.05$); MGC-803细胞同样发现miR-96 ASO组miR-96的相对表达量较空白对照组和转染无义ASO组明显下调(组间 $F = 488.42$, $P < 0.05$)(图2)。



■应用要点

miR-96在调控胃癌细胞的侵袭和迁移方面发挥重要作用,其很可能成为一个胃癌侵袭转移新的调节基因,为胃癌临床基因治疗提供新的靶点。

图4 转染miR-96 ASO后,SGC7901和MGC-803细胞的迁移能力明显下降。A, E: MOCK; B, F: NC; C, G: miR-96 ASO。^a $P < 0.05$ vs MOCK, NC. ASO: 反义寡核苷酸技术。

2.3 Transwell实验检测抑制miR-96的表达对胃癌细胞侵袭能力的影响 转染miR-96 ASO组的SGC7901细胞侵袭能力与空白对照组及转染无义ASO组相比明显降低(组间 $F = 596.33$, $P < 0.05$),而空白对照组与转染无义ASO组无明显差别($P > 0.05$)。MGC-803细胞实验结果与SGC7901细胞一致。结果显示:转染miR-96 ASO组的MGC-803细胞侵袭能力较空白对照组、

转染无义ASO组相比明显降低(组间 $F = 631.24$, $P < 0.05$),而空白对照组与转染无义ASO组无明显差别($P > 0.05$)(图3)。

2.4 Transwell实验检测抑制miR-96的表达对胃癌细胞迁移能力的影响 通过各组细胞穿过人工基质胶的细胞数量的多少,来评估各组细胞的侵袭能力,每组取5个高倍镜视野。结果显示:转染miR-96 ASO组的SGC7901细胞侵袭能力与空

■同行评价
本文具有一定指
导意义。

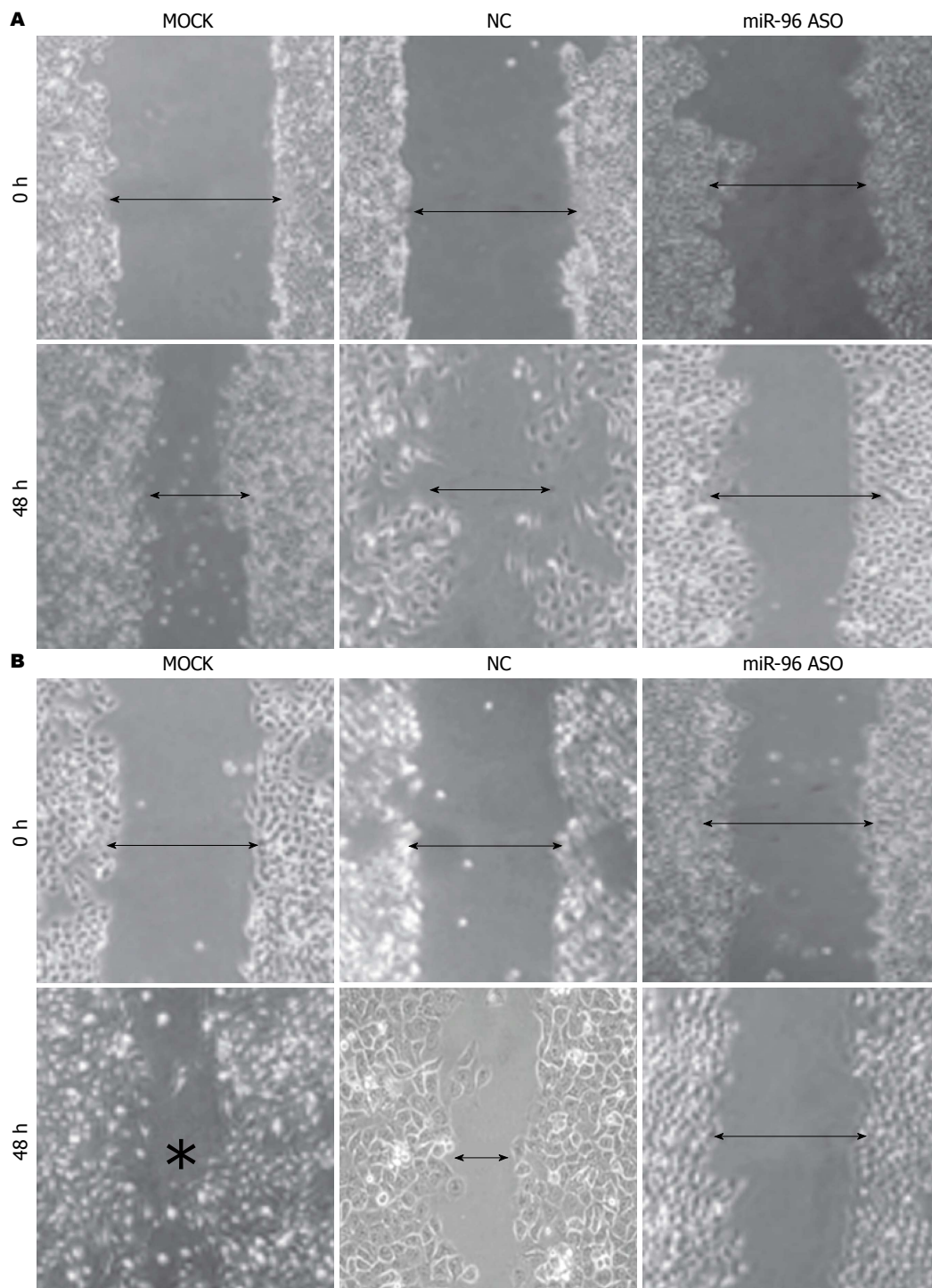


图 5 转染miR-96 ASO后, SGC7901和MGC-803细胞的划痕愈合能力明显下降. A: SGC7901细胞; B: MGC-803细胞.

白对照组及转染无义ASO组相比明显降低(组间 $F = 472.57$, $P < 0.05$), 而空白对照组与转染无义ASO组无明显差别($P > 0.05$). MGC-803细胞实验结果与SGC7901细胞一致. 结果显示: 转染miR-96 ASO组的MGC-803细胞侵袭能力较空白对照组、转染无义ASO组相比明显降低(组间 $F = 289.34$, $P < 0.05$), 而空白对照组与转染无义ASO组无明显差别($P > 0.05$)(图4).

2.5 划痕实验检测降低miR-96基因表达对肝癌细胞迁移能力的影响 miR-96 ASO组细胞划痕的愈合率比空白对照组和转染无义ASO组细胞划痕愈合率明显下降, 差异具有统计学意义(SGC7901细胞组间 $F = 743.24$, $P < 0.05$; MGC-803细胞组间 $F = 564.18$, $P < 0.05$)(图5).

2.6 抑制miR-96的表达对MMP2和MMP9蛋白表达的影响 miR-96 ASO转染SGC7901和MGC-803

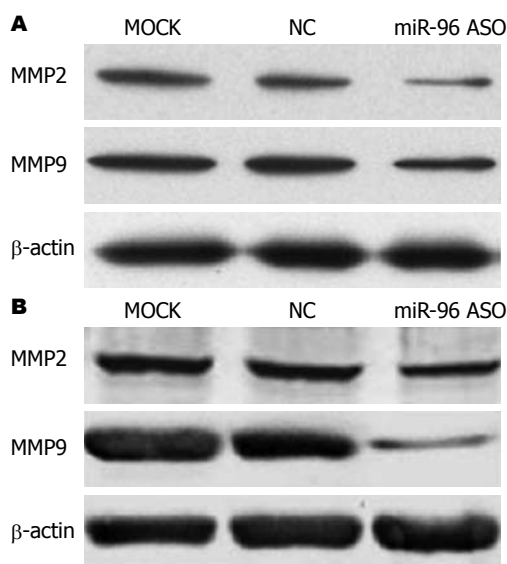


图6 MMP2和MMP9蛋白在转染miR-96 ASO的SGC7901和MGC-803细胞中的表达情况。A: SGC7901细胞; B: MGC-803细胞。

细胞后, Western blot检查各组细胞中MMP2和MMP9蛋白表达水平, 结果发现miR-96 ASO组MMP2和MMP9的相对表达水平明显低于空白对照组和转染无义ASO组($P<0.05$)(图6)。

3 讨论

胃癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一, 侵袭转移是患者死亡和治疗效果不理想的主要原因。侵袭转移是一个多步骤、多阶段、多途径、多个因素共同调控的复杂生物学过程^[24-27], 基本过程包括: 首先癌细胞脱离原发灶、其次癌细胞进入循环系统(淋巴循环和血液循环)、侵袭靶器官、远处定植和新生血管形成, 最终导致转移灶的形成。胃癌的侵袭转移牵涉到多个因素、蛋白和基因多方面的调节。miRNAs是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码RNA, 其大小20-25 nt, 通过与靶mRNA互补配对从而导致mRNA降解或抑制转录后蛋白翻译最终导致诱导基因沉默。研究证实miRNA参与一系列的重要的生物学进程, 包括生长发育、细胞分化、组织器官形成、细胞凋亡和癌症的发生及侵袭转移等。近年来研究发现^[28,29], miRNAs与恶性肿瘤关系密切, 与多种恶性肿瘤的发生及侵袭转移相关。因此miRNAs可能成为诊断肿瘤的新的分子标志和判断肿瘤治疗及预后的分子靶点, 而且miRNAs在转录后水平调节靶基因的表达, 这更有助于肿瘤的早发现、早诊断和早治疗^[30]。

研究已经证实miR-96在多种恶性肿瘤中表达失调^[13-19], 但miR-96在胃癌中的表达及作用目前尚不清楚。本实验首先利用实时荧光定量PCR检测临床胃癌标本及相对应的癌旁胃组织, 结果发现miR-96在胃癌组织中呈明显高表达。这表明miR-96在胃癌发生发展中发挥重要作用。为了研究miR-96对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响, 本实验首先通过转染miR-96 ASO降低胃癌细胞中miR-96的表达, 同时利用Transwell方法检测降低miR-96的表达后胃癌细胞侵袭迁移能力的变化, 结果显示转染miR-96 ASO的胃癌细胞侵袭迁移能力明显降低。此外我们进一步利用划痕实验观察到抑制miR-96的表达后, 胃癌细胞的划痕愈合能力明显下调。这些结果都表明miR-96在胃癌细胞的侵袭迁移过程中起着非常重要的作用, 这与Chen等^[19]研究发现降低miR-96的表达可以明显抑制肝癌细胞的侵袭迁移能力结果基本一致, 说明miR-96在恶性肿瘤的侵袭转移中发挥重要作用。

为了进一步分析降低miR-96表达后引起胃癌细胞侵袭迁移能力下降的可能机制, 我们发现, 抑制miR-96的表达可以明显降低侵袭相关蛋白MMP2和MMP9蛋白的表达, 说明miR-96可能是通过调控MMP2和MMP9的表达而对肿瘤细胞侵袭迁移产生影响。

总之, miR-96在调控胃癌细胞的侵袭和迁移方面发挥重要作用, 其很可能成为一个胃癌侵袭转移新的调节基因, 为胃癌临床基因治疗提供新的靶点。

4 参考文献

- 1 Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division. *Cell* 2005; 122: 6-7 [PMID: 16009126]
- 2 Schwarzenbacher D, Balic M, Pichler M. The role of microRNAs in breast cancer stem cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 14712-14723 [PMID: 23860207]
- 3 Park EC, Kim G, Jung J, Wang K, Lee S, Jeon SS, Lee ZW, Kim SI, Kim S, Oh YT, Shin JH, Jang HS, Choi BO, Kim GH. Differential expression of MicroRNAs in patients with glioblastoma after concomitant chemoradiotherapy. *OMICS* 2013; 17: 259-268 [PMID: 23586679 DOI: 10.1089/omi.2012.0065]
- 4 Katsuda T, Ochiya T. [microRNAs act as a fine-tuner of liver development, regeneration, and carcinogenesis]. *Seikagaku* 2012; 84: 666-674 [PMID: 23012877]
- 5 Xia H, Hui KM. MicroRNAs involved in regulating epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells as molecular targets for cancer therapeutics. *Cancer Gene Ther* 2012; 19: 723-730 [PMID: 22975591 DOI: 10.1038/cgt.2012.58]
- 6 O'Connell RM, Baltimore D. MicroRNAs and hematopoietic cell development. *Curr Top Dev Biol* 2012;

- 99: 145-174 [PMID: 22365738 DOI: 10.1016/B978-0-12-387038-4.00006-9]
- 7 Onder TT, Daley GQ. microRNAs become macro players in somatic cell reprogramming. *Genome Med* 2011; 3: 40 [PMID: 21699744 DOI: 10.1186/gm256]
- 8 Zimmerman AL, Wu S. MicroRNAs, cancer and cancer stem cells. *Cancer Lett* 2011; 300: 10-19 [PMID: 20965651 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.09.019]
- 9 Agami R. microRNAs, RNA binding proteins and cancer. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 370-374 [PMID: 20486997 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02279]
- 10 Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86 [PMID: 14657504]
- 11 Wang Y, Luo H, Li Y, Chen T, Wu S, Yang L. hsa-miR-96 up-regulates MAP4K1 and IRS1 and may function as a promising diagnostic marker in human bladder urothelial carcinomas. *Mol Med Rep* 2012; 5: 260-265 [PMID: 21993544 DOI: 10.3892/mmr.2011.621]
- 12 Lin H, Dai T, Xiong H, Zhao X, Chen X, Yu C, Li J, Wang X, Song L. Unregulated miR-96 induces cell proliferation in human breast cancer by down-regulating transcriptional factor FOXO3a. *PLoS One* 2010; 5: e15797 [PMID: 21203424 DOI: 10.1371/journal.pone.0015797]
- 13 Sarver AL, French AJ, Borralho PM, Thayanithy V, Oberg AL, Silverstein KA, Morlan BW, Riska SM, Boardman LA, Cunningham JM, Subramanian S, Wang L, Smyrk TC, Rodrigues CM, Thibodeau SN, Steer CJ. Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer* 2009; 9: 401
- 14 Guo Y, Liu H, Zhang H, Shang C, Song Y. miR-96 regulates FOXO1-mediated cell apoptosis in bladder cancer. *Oncol Lett* 2012; 4: 561-565 [PMID: 23741253]
- 15 Xu D, He X, Chang Y, Xu C, Jiang X, Sun S, Lin J. Inhibition of miR-96 expression reduces cell proliferation and clonogenicity of HepG2 hepatoma cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 653-661 [PMID: 23151657 DOI: 10.3892/or.2012.2138]
- 16 Xu XM, Qian JC, Deng ZL, Cai Z, Tang T, Wang P, Zhang KH, Cai JP. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer. *Oncol Lett* 2012; 4: 339-345 [PMID: 22844381]
- 17 Wang Y, Huang JW, Calses P, Kemp CJ, Taniguchi T. MiR-96 downregulates REV1 and RAD51 to promote cellular sensitivity to cisplatin and PARP inhibition. *Cancer Res* 2012; 72: 4037-4046 [PMID: 22761336 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0103]
- 18 Vishwamitra D, Li Y, Wilson D, Manshouri R, Curry CV, Shi B, Tang XM, Sheehan AM, Wistuba II, Shi P, Amin HM. MicroRNA 96 is a post-transcriptional suppressor of anaplastic lymphoma kinase expression. *Am J Pathol* 2012; 180: 1772-1780 [PMID: 22414602 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.01.008]
- 19 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Ye SL. Suppression of microRNA-96 expression inhibits the invasion of hepatocellular carcinoma cells. *Mol Med Rep* 2012; 5: 800-804 [PMID: 22160187 DOI: 10.3892/mmr.2011.695]
- 20 Yu S, Lu Z, Liu C, Meng Y, Ma Y, Zhao W, Liu J, Yu J, Chen J. miRNA-96 suppresses KRAS and functions as a tumor suppressor gene in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2010; 70: 6015-6025 [PMID: 20610624 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4531]
- 21 Guttilla IK, White BA. Coordinate regulation of FOXO1 by miR-27a, miR-96, and miR-182 in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 23204-23216 [PMID: 19574223 DOI: 10.1074/jbc.M109.031427]
- 22 Myatt SS, Wang J, Monteiro LJ, Christian M, Ho KK, Fusi L, Dina RE, Brosens JJ, Ghaem-Maghamsi S, Lam EW. Definition of microRNAs that repress expression of the tumor suppressor gene FOXO1 in endometrial cancer. *Cancer Res* 2010; 70: 367-377 [PMID: 20028871 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1891]
- 23 Pineau P, Volinia S, McJunkin K, Marchio A, Battiston C, Terris B, Mazzaferro V, Lowe SW, Croce CM, Dejean A. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 264-269 [PMID: 20018759 DOI: 10.1073/pnas.0907904107]
- 24 Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 453-458 [PMID: 12778135]
- 25 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035]
- 26 Yang Z, Garcia A, Xu S, Powell DR, Vertino PM, Singh S, Marcus AI. Withania somnifera Root Extract Inhibits Mammary Cancer Metastasis and Epithelial to Mesenchymal Transition. *PLoS One* 2013; 8: e75069 [PMID: 24069380 DOI: 10.1371/journal.pone.0075069]
- 27 Abdul Hafid SR, Chakravarthi S, Nesaretnam K, Radhakrishnan AK. Tocotrienol-adjuvanted dendritic cells inhibit tumor growth and metastasis: a murine model of breast cancer. *PLoS One* 2013; 8: e74753 [PMID: 24069344 DOI: 10.1371/journal.pone.0074753]
- 28 Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in *Drosophila*. *Cell* 2003; 113: 25-36 [PMID: 12679032]
- 29 Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006; 127: 679-695 [PMID: 17110329]
- 30 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]

编辑 田滢 电编 闫晋利



IL-10在骨髓间充质干细胞分泌的因子逆转急性肝衰竭中的作用

雷延昌, 梁青, 罗盼, 李雯

雷延昌, 梁青, 罗盼, 李雯, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006
雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎和肝衰竭发病机制的研究。江西省科技支撑基金资助项目, No. 2009JX00916
南昌市科技局重点基金资助项目, No. 洪财政[2012]37号社会发展支撑计划-10
作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由梁青、罗盼及李雯实施; 论文写作由雷延昌完成。
通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院. ycleihust@sina.com
电话: 0791-88499615
收稿日期: 2013-10-30 修回日期: 2013-11-17
接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2013-12-08

Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate mouse acute live failure by up-regulating IL-10

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Wen Li

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Wen Li, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: the Foundation of Jiangxi Science and Technology Department, No. 2009JX0096; and the Foundation of Nanchang Science and Technology Division, No. 2012-37-10
Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. ycleihust@sina.com
Received: 2013-10-30 Revised: 2013-11-17
Accepted: 2013-11-27 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To explore the role of interleukin-10 (IL-10) in mediating the therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cell-derived molecules (MSC-DM) on acute live failure (ALF).

METHODS: D-galactosamine (D-GaIN) and lipopolysaccharide (LPS) were used to induce ALF in male BALB/c mice. Bone marrow MSCs were cultured and purified by the adherent method and medium containing MSC-CM was harvested. Healthy BALB/c mice were randomly assigned to three groups ($n = 18$ for each): ALF group, MSC-CM treatment group and

MSC-CM plus IL-10 antibody group. Kaplan-Meier method was used for survival analysis. Serum alanine transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were detected at different time points, liver tissue pathological changes were examined after 24 h, and high mobility group box 1 (HMGB1), IL-1 β , tumor necrosis factor α (TNF- α) and IL-10 were detected by ELISA.

RESULTS: The survival rate was significantly higher in the MSC-CM treatment group than in the ALF group (88.9% vs 39%, $P < 0.01$). MSC-CM treatment decreased ALT/AST levels at 12, 24 and 48 h more significantly compared with the ALF group (all $P < 0.01$). Serum HMGB1 at 6, 12, and 24 h, and TNF- α and IL-1 β at 24 h were also decreased significantly in the MSC-CM treatment group (all $P < 0.01$), however, IL-10 level was increased significantly in the MSC-CM treatment group ($P < 0.01$). The inflammation and necrosis in liver tissues were mitigated more significantly in the MSC-CM treatment group than in the ALF group ($P < 0.01$). In MSC-CM treated mice, administration of IL-10 antibody neutralized the therapeutic effects of MSC-CM: survival rate was decreased, and ALT level, serum HMGB1, TNF- α , IL-1 β and inflammation or necrosis in liver tissues at 24 h were increased.

CONCLUSION: IL-10 plays an important role in mediating the therapeutic effects of MSC-CM on ALF.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Word: Mesenchymal stem cell-derived molecules; Interleukin-10; Acute liver failure

Lei YC, Liang Q, Luo P, Li W. Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate mouse acute live failure by up-regulating IL-10. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3783-3789 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3783.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3783>

■背景资料

国内外合作者研究显示骨髓间充质干细胞分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)减轻急性肝衰竭小鼠肝脏炎症坏死和促进肝细胞再生,其中重要抗炎因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)的水平升高显著,但IL-10在治疗急性肝衰竭中的作用尚不清楚。

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■ 研发前沿

骨髓间充质干细胞和MSC-CM对急性肝衰竭具有治疗作用,但对单一细胞因子的作用尚不十分清楚。IL-10是一种重要的抗炎因子,在MSC-CM治疗急性肝衰竭中的作用值得进一步探讨。

摘要

目的: 了解白介素-10(interleukin-10, IL-10)在骨髓间充质干细胞分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)逆转急性肝衰竭中的作用。

方法: D-氨基半乳糖(D galactosamine, D-GaIN)和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导建立Balb/c小鼠急性肝衰竭模型;贴壁筛选法培养纯化小鼠BMSCs和获得MSC-CM。健康Balb/c小鼠♂随机均分为肝衰竭对照组、MSC-CM治疗组和MSC-CM+IL-10抗体组,每组18只。Kaplan-Meier法进行生存分析,生化检测各实验组丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)和天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 36 h每组处死1-2只动物,取肝脏进行肝脏病理检测。ELISA检测血清高迁移率蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)和IL-10水平。

结果: MSC-CM治疗组1 wk生存率为88.9%,显著高于肝衰竭对照组的39%, $P < 0.01$ 。12、24和48 h血清ALT和AST峰值显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$)。36 h肝脏炎症坏死较对照明显减轻。MSC-CM治疗组在6、12和24 h HMGB1水平以及24 h的TNF- α 和IL-1 β 水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$),而抗炎因子IL-10显著高于对照组($P < 0.01$)。IL-10抗体阻断致MSC-CM治疗的生存率降低和ALT水平升高,肝脏炎症坏死增加,血清HMGB1、TNF- α 和IL-1 β 水平升高。

结论: IL-10在MSC-CM逆转小鼠急性肝衰竭中发挥重要作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 骨髓间充质干细胞分泌因子; 白介素-10; 急性肝衰竭

核心提示: 骨髓间充质干细胞分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules)治疗上调急性肝衰竭小鼠抗炎因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)水平, IL-10抗体阻断后小鼠生存率降低、ALT水平升高,肝脏炎症坏死增加,血清高迁移率蛋白B1(high mobility group box 1)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α)和IL-1 β 水平升高。

雷延昌, 梁青, 罗盼, 李雯. IL-10在骨髓间充质干细胞分泌的因子逆转急性肝衰竭中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(34):

3783-3789 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3783.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3783>

0 引言

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有高度自我更新和多向分化潜能,已经用于多种组织器官损伤的修复。研究发现, BMSCs能在特定环境下分化为类肝细胞样细胞,抑制肝脏炎症反应和促进受损肝细胞再生降低肝衰竭动物死亡率^[1-5], BMSCs分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)也可减轻肝衰竭动物肝细胞坏死,促进肝细胞再生,从而提高动物生存率^[6,7],其作用机制目前知之较少。目前认为,白介素-10(interleukin-10, IL-10)是一种重要的抗炎因子, BMSC通过前列腺E2介导巨噬细胞上调IL-10分泌发挥对败血症的治疗作用^[8]。与之一致,急性肝衰竭小鼠给予MSC-CM其IL-10水平有显著升高^[6]。此外, BMSCs高度表达转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和IL-6可以诱导IL-10产生^[9,10]。为了解IL-10在MSC-CM逆转急性肝衰竭中的作用进行本研究。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8 wk Balb/c小鼠♂, 体质量20 g \pm 0.5 g,由南昌大学医学院动物科学部提供(动物质量合格证编号: 2013091206),动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南。胎牛血清、胰蛋白酶(GIBCO公司,美国); DMEM低糖培养基(Hyclone公司,美国); 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(Sigma公司,美国); D-氨基半乳糖(D galactosamine, D-GaIN)(Solarbio公司,中国); 血清高迁移率蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)和IL-1 β 、TNF- α 、IL-6和IL-10试剂盒(NEB公司,美国); 兔抗鼠IL-10(ABGENT公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 MSCs提取纯化和MSC-CM获取: 参照文献^[11,12]用贴壁法培养法提取MSCs, 无菌获取2-3 wk ♂ Balb/c小鼠双侧股骨和胫骨,用生理盐水冲洗,剔除表面的组织,中间剪断,暴露骨髓腔, DMEM培养基冲洗反复骨髓腔,将冲洗液吹打成细胞悬液, 1000 r/min离心10 min,弃上清,用含有10%胎牛血清DMEM培养液重悬细胞,接种于25 cm²培养瓶。48 h全量更换培养液,弃悬浮细胞,每2-3 d换液一次,直至长至80%-90%融合

时,用0.25%胰酶消化1:2传代。MSCs的鉴定采用免疫荧光检测CD34/CD29表达^[11,12]。取第二或三代MSCs(1×10^7 个细胞)更换无血清培养液24 h,上清为MSC-CM用于本研究。

1.2.2 动物模型及分组: Balb/c小鼠♂实验前12 h禁食,不禁水。动物随机分为3组,肝衰竭组(对照组)、MSC-CM组和MSC-CM+IL-10抗体组,每组18只。急性肝衰竭组(对照组)给予600 mg/kg D-氨基半乳糖和10 μ g/kg细菌LPS, MSC-CM治疗组在腹腔注射D-GaIN/LPS前2 h腹腔注射MSC-CM(MSCs培养上清)0.3 mL, MSC-CM+IL-10抗体组在MSC-CM治疗基础上给予IL-10抗体5 μ g。

1.2.3 标本收集: 分别于腹腔注射D-GaIN/LPS后12、24、48 h麻醉动物眼眶采血分离血清置于-80 $^{\circ}$ C保存。每组1-2只动物于36 h处死,肝组织用40 g/L中性甲醛固定,进行HE染色。

1.2.4 血清生化 and 细胞因子检测: 全自动生化分析仪检测丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)/天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST),血清HMGB1和IL-1 β 、TNF- α 、IL-6和IL-10检测按照生产厂家说明书进行,根据系列浓度梯度的标准品获得标准曲线计算结果。

统计学处理 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析,数据资料以mean \pm SD表示,生存率比较采用Log-rank检验,两组之间的组间比较应用独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MSC-CM治疗对D-GaIN/LPS急性肝衰竭小鼠生存率和血清ALT和AST水平的影响 D-GaIN/LPS腹腔注射小鼠1 wk生存率为39.0%,显著低于MSC-CM治疗组的88.9%($P < 0.01$)(图1A)。急性肝衰竭小鼠血清ALT/AST在12 h升高,24 h达峰值,48 h逐渐恢复正常。MSC-CM治疗组血清ALT/AST水平在12、24和48 h显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$,图1B,C)。

2.2 MSC-CM治疗对抗炎因子IL-10及肝衰竭小鼠血清HMGB1、TNF- α 和IL-1 β 水平的影响 为了解MSC-CM治疗对急性肝衰竭炎症因子的影响,根据24 h血清ALT水平达峰值,ELISA检测血清24 h的TNF- α 和IL-1 β 水平以及IL-10水平。结果显示, MSC-CM治疗组抗炎因子IL-10显著高于对照组($P < 0.01$,图2A)。而TNF- α 和IL-1 β 显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$,图2A)。ELISA检测血清HMGB1水平发现, MSC-CM治疗组在6、12和24 h的水平显

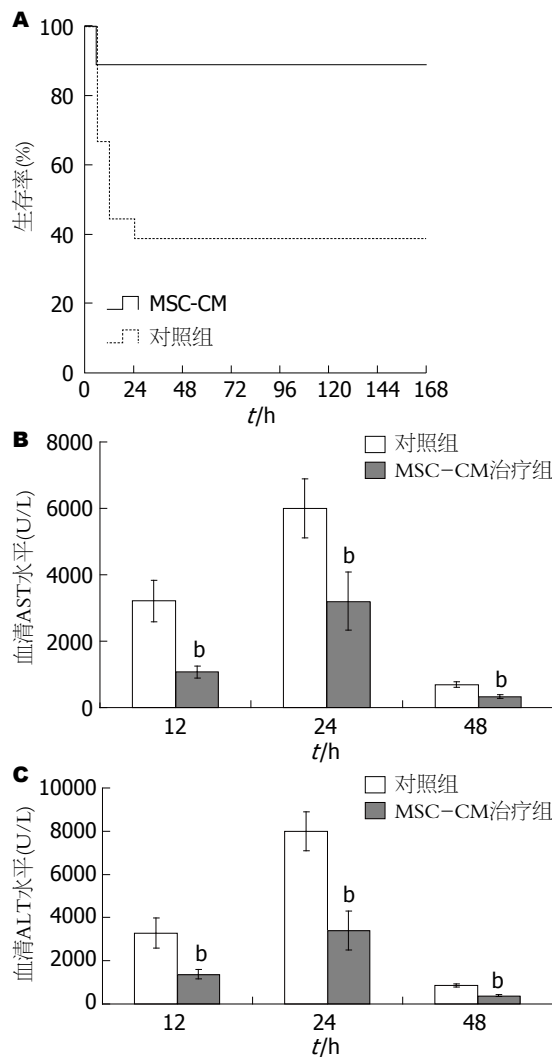


图1 MSC-CM治疗D-GaIN/LPS肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT和AST水平。A: Kaplan-Meier小鼠生存率分析。^b $P < 0.01$ vs 对照组; B: 血清AST在12、24和48 h水平。^b $P < 0.01$ vs 对照组; C: 血清ALT在12、24和48 h水平。^b $P < 0.01$ vs 对照组。MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶。

著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$,图2B)。

2.3 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠肝组织炎症的影响 肝衰竭对照组有大量肝细胞片状坏死,坏死区域大量炎症细胞浸润(图3A)。MSC-CM治疗组仅有局灶性炎症细胞浸润(图3B)。

2.4 IL-10对MSC-CM治疗急性肝衰竭的影响 为了IL-10在MSC-CM治疗中的作用,首先应了解IL-10是否来源于输注的MSC-CM,ELISA检测MSC-CM的浓度发现,几乎检测不到IL-10水平。表明小鼠血清中IL-10不是来源于MSC-CM,而是MSC-CM治疗增加IL-10水平。应用IL-10(5 μ g)抗体阻断,急性肝衰竭小鼠生存率(50%)较MSC-CM治疗组显著下降($P < 0.01$),接近于肝衰竭对照组的39%(图4A)。血清ALT水平、TNF- α 、IL-

■ 相关报道

骨髓间充质肝细胞和MSC-CM对急性肝衰竭具有治疗作用,作者最近研究提示MSC-CM移植急性肝衰竭肝细胞高迁移率蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)胞浆移位,但对IL-10在MSC-CM治疗急性肝衰竭中作用尚不清楚。

■ 创新盘点

本研究发现IL-10在MSC-CM逆转急性肝衰竭中发挥重要作用。

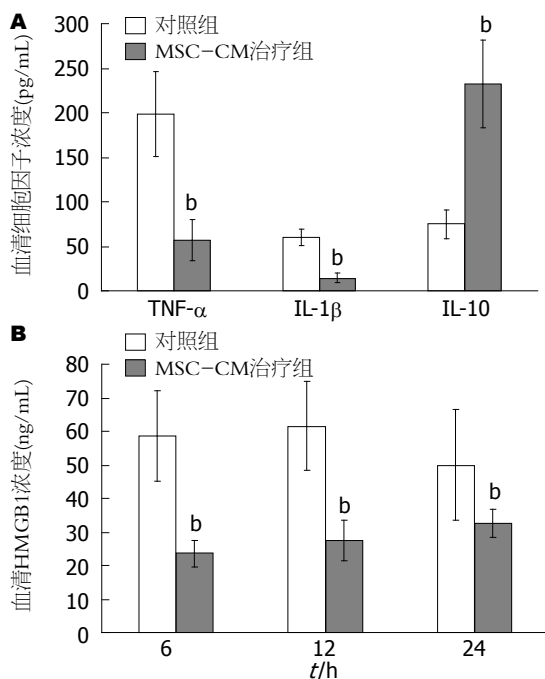


图2 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠血清炎症因子和HMGB1水平的影响。A: MSC-CM治疗组和对照组血清24 h的TNF-α、IL-1β和IL-10水平, ^b $P < 0.01$ vs 对照组; B: MSC-CM治疗组和对照组血清6、12和24 h血清HMGB1水平, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率蛋白B1; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL: 白介素。

1β和HMGB1水平较MSC-CM治疗组显著升高($P < 0.01$, 图4B-D), 组织学显示肝脏炎症坏死增加(图3C)。

3 讨论

D-GalN/LPS腹腔注射是目前比较成熟的小鼠急性肝衰竭模型。♂ Balb/c小鼠腹腔注射D-GalN/LPS 1 wk生存率为39%, 动物死亡发生在给药后6-24 h, 与作者之前的研究一致^[11,12]。MSC-CM治疗组小鼠1 wk生存率为88.9%显著高于肝衰竭对照组的39%。肝衰竭小鼠血清ALT和AST水平在12 h开始升高, 24 h达高峰, 48 h开始下降并逐渐恢复正常。与国外的研究和作者近来的研究结果一致^[6,7,12], MSC-CM治疗组血清ALT和AST水平24 h峰值较对照组显著降低, 表明MSC-CM治疗减轻肝细胞损伤。

内毒素血症和巨噬细胞活化释放炎症因子在急性肝衰竭发病中的重要作用目前已得到共识。研究显示, 应用氯化钆部分清除肝脏枯否细胞, 显著降低D-GalN/LPS诱导小鼠急性肝损伤, 提高生存率^[13]。急性肝衰竭内毒素血症发生率可高达90%-100%, 急性肝衰竭Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)在各种免疫细胞表达增加^[14]。内

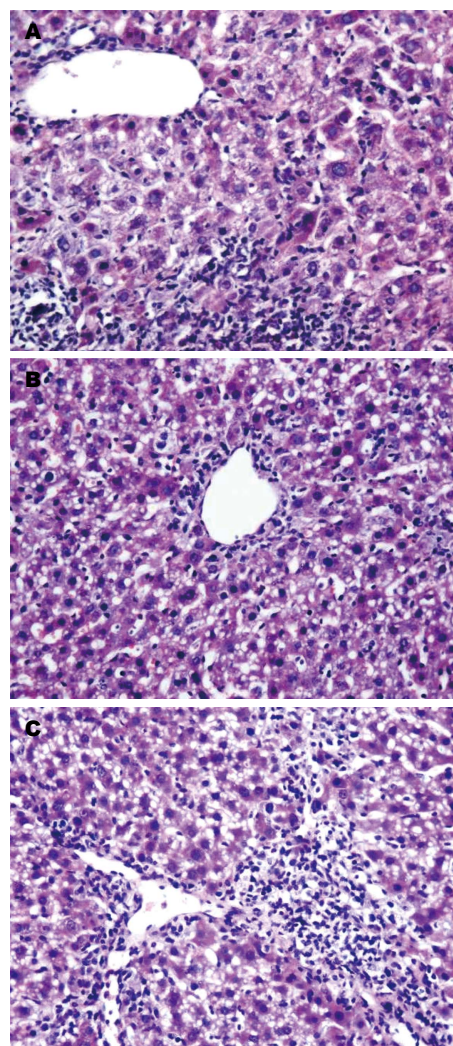


图3 MSC-CM减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死($\times 100$)。A: 生理盐水对照组急性肝衰竭小鼠肝细胞片状坏死, 坏死区大量炎症细胞浸润; B: MSC-CM治疗组仅出现局灶性炎症细胞浸润; C: MSC-CM+IL-10抗体组, 肝细胞片状坏死, 坏死区大量炎症细胞浸润。

毒素血症, 主要是革兰氏阴性菌的LPS刺激枯否细胞释放大量炎症因子, 进一步加重肝损伤^[14,15]。后期炎症因子HMGB1既可通过LPS刺激的巨噬细胞、中性粒细胞和血管内皮细胞主动释放, 又可通过坏死细胞被动释放^[16-19]。HMGB1可直接促进TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-8释放和外周单核细胞趋化因子释放^[20,21], 募集更多炎症细胞加剧炎症反应和组织损伤。动物和临床研究显示, HMGB1与急性肝衰竭发生和疾病的严重程度密切相关^[11,12,22,23]。

研究者前期发现BMSC移植降低肝衰竭小鼠HMGB1水平和肝细胞HMGB1细胞内移位, 提高生存率^[11,12]。本研究显示, MSC-CM治疗组在6、12和24 h的HMGB1水平显著低于对照组。与之相一致, MSC-CM治疗组血清TNF-α、

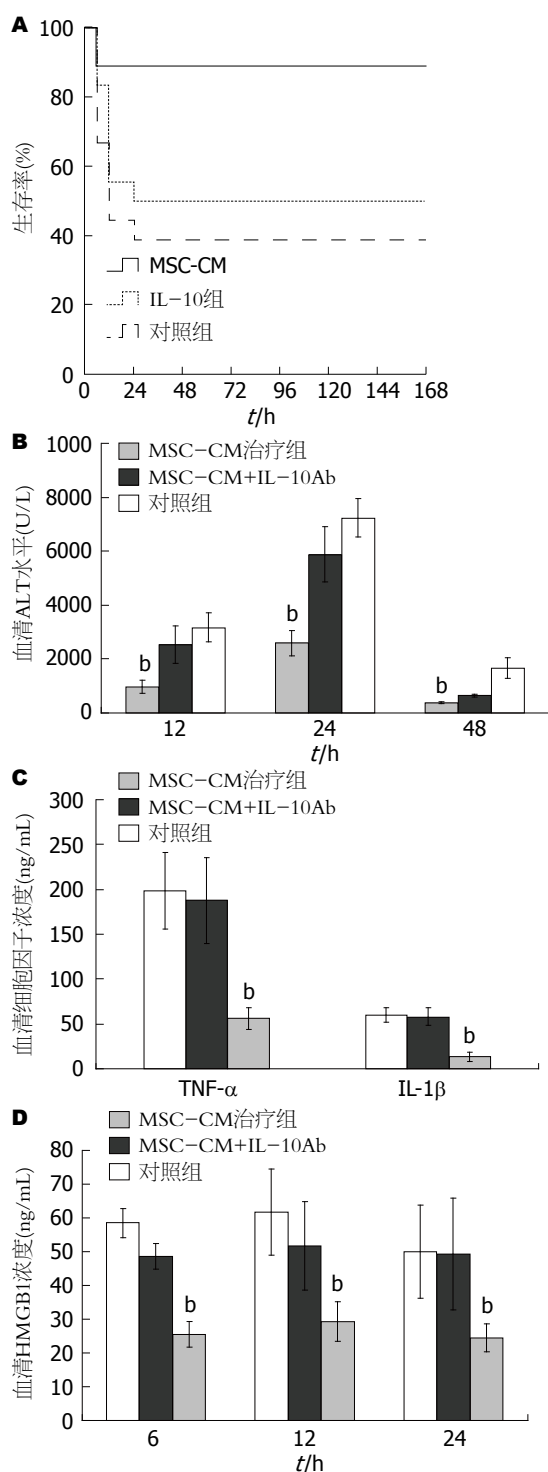


图4 IL-10抗体对MSC-CM治疗肝衰竭小鼠血清炎症因子水平的影响。A: Kaplan-Meier分析小鼠生存率; B: 3组6、12和24 h血清ALT水平; C: 3组24 h血清TNF- α 和IL-1 β 水平; D: 3组6、12和24 h血清HMGB1水平。* $P < 0.01$ vs MSC-CM。MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率蛋白B1; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL: 白介素; ALT: 谷丙转氨酶。

IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组, 而抗炎因子IL-10显著高于对照组。此外, MSC-CM治疗组肝脏炎症坏死程度较对照组明显减轻。提示MSC-CM治疗增加抗炎因子IL-10水平, 降

低HMGB1和多种炎症因子水平减轻肝脏炎症坏死。

为进一步了解抗炎因子IL-10在MSC-CM逆转急性肝衰竭中的作用, 应用IL-10抗体阻断显示, 急性肝衰竭小鼠生存率下降至50%, 略高于对照组的39%, 血清ALT和AST水平、TNF- α 和IL-1 β 以及肝脏炎症坏死增加。表明MSC-CM治疗增加IL-10水平在逆转急性肝衰竭中发挥重要作用。

研究发现, MSC-CM分泌的因子, 包括BMSCs高度表达TGF- β 和IL-6可直接导致IL-10产生^[9,10]。此外, BMSC通过前列腺E2介导巨噬细胞上调IL-10分泌发挥对败血症的治疗作用^[8]。随后的研究显示, MSC-CM可减轻急性肝衰竭小鼠肝细胞坏死和促进肝细胞再生, 提高动物生存率, 同时伴有IL-10水平有显著升高^[6,7]。最近发现, BMSCs治疗下调肾脏和肺缺血再灌注损伤局部炎症因子和上调抗炎因子IL-10水平对抗组织炎症坏死^[24,25], MSCs分泌的因子上调IL-10水平逆转急性肾损伤^[26]。表明, MSC-CM有可能通过上调IL-10水平对抗多种器官功能衰竭的炎症反应。本研究显示, MSC-CM同时具有上调IL-10水平和下调包括HMGB1在内的炎症因子水平, 可能是MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制之一。

最新研究显示, 细胞自噬可以选择性清除损伤的线粒体, 保护线粒体损伤诱导的细胞死亡。研究显示, 促进肝细胞自噬可以保护对乙酰氨基酚、D-GalN/LPS以及酒精对小鼠的肝细胞毒性^[27-29]。抑制肝细胞自噬增加TNF- α 和D-GalN诱导的肝细胞凋亡及损伤。近来的研究显示, 血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)可以促进肝细胞自噬, 保护LPS引起的肝损伤^[30]。已知, HO-1是IL-10信号通路下游激活分子。是否MSC-CM上调抗炎因子IL-10水平促进肝细胞自噬发挥肝细胞保护作用值得进一步研究。

本研究结果显示, MSC-CM治疗与BMSCs移植同样可以促进急性肝衰竭小鼠抗炎因子IL-10水平, 降低急性肝衰竭HMGB1和TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子水平, 减轻肝脏炎症坏死, 提高生存率。IL-10抗体阻断了MSC-CM对急性肝衰竭的治疗效应, 表明IL-10在MSC-CM逆转小鼠急性肝衰竭中发挥重要作用。上述结果为BMSCs抗肝衰竭炎症反应治疗提供了新的理论基础, 具有重要的理论和应用价值。

4 参考文献

- Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad

■应用要点

本研究显示, IL-10在MSC-CM逆转急性肝衰竭中发挥重要作用, 为临床应用MSC-CM和诱导IL-10干预急性肝衰竭提供理论支持。

■同行评价

本文研究结果具较高的基础和临床应用价值。

- M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002; 109: 1291-1302 [PMID: 12021244]
- 2 Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H, Zare Mehrjardi N, Kazemi Ashtiani S, Malekzadeh R, Baharvand H. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3359-3363 [PMID: 17659676]
- 3 Anzalone R, Lo Iacono M, Corrao S, Magno F, Loria T, Cappello F, Zummo G, Farina F, La Rocca G. New emerging potentials for human Wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 423-438 [PMID: 19958166 DOI: 10.1089/scd.2009.0299]
- 4 Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, Chen CT, Shih YR, Fang SC, Yang VW, Lee OK. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 2111-2121, 2121. e1-3 [PMID: 18455168 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.015]
- 5 Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848 [PMID: 18243183 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.12.024]
- 6 van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, Berthiaume F, Nahmias Y, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration in vitro and in vivo. *Hepatology* 2008; 47: 1634-1643 [PMID: 18395843 DOI: 10.1002/hep.22236]
- 7 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982 DOI: 10.1371/journal.pone.0000941]
- 8 Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Mayer B, Parmelee A, Doi K, Robey PG, Leelahavanichkul K, Koller BH, Brown JM, Hu X, Jelinek I, Star RA, Mezey E. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009; 15: 42-49 [PMID: 19098906 DOI: 10.1038/nm.1905]
- 9 Pittenger M. Sleuthing the source of regeneration by MSCs. *Cell Stem Cell* 2009; 5: 8-10 [PMID: 19570508 DOI: 10.1016/j.stem.2009.06.013]
- 10 McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-1397 [PMID: 17994024 DOI: 10.1038/ni1539]
- 11 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1396-1401
- 12 雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2009-2015
- 13 Zhang M, Xu S, Han Y, Cao X. Apoptotic cells attenuate fulminant hepatitis by priming Kupffer cells to produce interleukin-10 through membrane-bound TGF- β . *Hepatology* 2011; 53: 306-316 [PMID: 21140375 DOI: 10.1002/hep.24029]
- 14 陈煜, 时红波, 张帆, 丁美, 赵军, 刘旭华, 段钟平. TLR2、TLR4和TLR9在慢性重型肝炎患者及肝衰竭大鼠中的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1320-1325
- 15 Rolando N, Wade J, Davalos M, Wendon J, Philpott-Howard J, Williams R. The systemic inflammatory response syndrome in acute liver failure. *Hepatology* 2000; 32: 734-739 [PMID: 11003617 DOI: 10.1053/jhep.2000.17687]
- 16 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240 DOI: 10.1084/jem.20042614]
- 17 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson U, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600 DOI: 10.1126/science.285.5425.248]
- 18 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890 DOI: 10.1038/nature00858]
- 19 Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, Ferrera D, Porto A, Bachi A, Rubartelli A, Agresti A, Bianchi ME. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J* 2003; 22: 5551-5560 [PMID: 14532127 DOI: 10.1093/emboj/cdg516]
- 20 Andersson U, Wang H, Palmblad K, Aveberger AC, Bloom O, Erlandsson-Harris H, Janson A, Kokkola R, Zhang M, Yang H, Tracey KJ. High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 565-570 [PMID: 10952726 DOI: 10.1084/jem.192.4.565]
- 21 Raucci A, Palumbo R, Bianchi ME. HMGB1: a signal of necrosis. *Autoimmunity* 2007; 40: 285-289 [PMID: 17516211 DOI: 10.1080/08916930701356978]
- 22 赵中夫, 韩德云, 张芸, 王锋, 刘明社. 高迁移率族蛋白-1在实验性急性肝衰竭中的作用. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 388-389
- 23 彭建平, 范学工, 刘洪波. 慢性乙型肝炎患者高迁移率族蛋白-1 mRNA的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 167-172
- 24 Tögel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F31-F42 [PMID: 15713913 DOI: 10.1152/ajprenal.00007.2005]
- 25 Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, Phinney DG. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 11002-11007 [PMID: 17569781 DOI: 10.1073/pnas.0704421104]
- 26 Milwid JM, Ichimura T, Li M, Jiao Y, Lee J, Yarmush JS, Parekkadan B, Tilles AW, Bonventre JV, Yarmush ML. Secreted factors from bone marrow stromal cells upregulate IL-10 and reverse acute kidney injury. *Stem Cells Int* 2012; 2012: 392050

- [PMID: 23319959 DOI: 10.1155/2012/392050]
- 27 Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X, Dong XC, Yin XM. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol* 2013; 58: 993-999 [PMID: 23339953 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.011]
- 28 Ni HM, Bockus A, Boggess N, Jaeschke H, Ding WX. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology* 2012; 55: 222-232 [PMID: 21932416 DOI: 10.1002/hep.24690]
- 29 Amir M, Zhao E, Fontana L, Rosenberg H, Tanaka K, Gao G, Czaja MJ. Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ* 2013; 20: 878-887 [PMID: 23519075 DOI: 10.1038/cdd.2013.21]
- 30 Carchman EH, Rao J, Loughran PA, Rosengart MR, Zuckerbraun BS. Heme oxygenase-1-mediated autophagy protects against hepatocyte cell death and hepatic injury from infection/sepsis in mice. *Hepatology* 2011; 53: 2053-2062 [PMID: 21437926 DOI: 10.1002/hep.24324]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能写成Vmax, μ不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *Vd*, *T*_{1/2} *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

腹内高压对肠黏膜屏障功能损伤的影响

赵晓琴, 陈英, 邝晓聪, 陈强, 覃桦, 蒙永毅, 叶永康

■背景资料

随着基础医学和临床医学研究的进展, 腹腔内高压和腹腔间隔室综合征日益受到重视, 腹内压增高可见于ICU内的多种疾病, 可导致的器官功能障碍。腹内压升高, 胃肠道反应最为敏感, 是最早受损的器官。

赵晓琴, 陈英, 邝晓聪, 陈强, 覃桦, 蒙永毅, 叶永康, 广西医科大学第一附属医院重症监护中心 广西壮族自治区南宁市 530021

赵晓琴, 主任医师, 主要从事ICU技术的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013139

作者贡献分布: 赵晓琴与陈英对此文所作贡献均等; 此课题由赵晓琴与陈英设计; 研究过程由赵晓琴与陈英操作完成; 邝晓聪、陈强、覃桦、蒙永毅及叶永康参加了实验研究过程; 研究所用新试剂及分析工具由赵晓琴提供; 数据分析由陈英完成; 本论文写作由陈英与赵晓琴完成。

通讯作者: 赵晓琴, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院重症一区。

xiaoqin62@sohu.com

电话: 0771-5350811

收稿日期: 2013-08-19 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-08

Intra-abdominal high pressure induces intestinal barrier dysfunction in rats

Xiao-Qin Zhao, Ying Chen, Xiao-Chong Kuang, Qiang Chen, Hua Qin, Yong-Yi Meng, Yong-Kang Ye

Xiao-Qin Zhao, Ying Chen, Xiao-Chong Kuang, Qiang Chen, Hua Qin, Yong-Yi Meng, Yong-Kang Ye, Critical Care Medical Center, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation, No. 2010GXNSFA013139

Correspondence to: Xiao-Qin Zhao, Chief Physician, Critical Care Medical Center, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. Xiaoqin62@sohu.com

Received: 2013-08-19 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To study the effect of different degrees of intra-abdominal high pressure on intestinal mucosal barrier dysfunction and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: Forty-five adult male SD rats were randomly divided into a normal control group, a 10 mmHg and a 20 mmHg group ($n = 15$ for each). Nitrogen pneumoperitoneum was induced to generate intra-abdominal high pressure in animal models. The two pneumoperitoneum groups were further divided

into three subgroups (five rats in each subgroup) for testing when pneumoperitoneum was maintained for 1, 2 and 4 h, respectively. Twenty-four hours after the relief of pneumoperitoneum, a spectrophotometer was used to measure the concentration of blue dextran 2000 in different segments of the small intestine. Malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) in intestinal tissue homogenates, as well as plasma diamine oxidase (DAO) and D-lactic acid were measured. Morphological changes in the intestinal tissue were observed by light microscopy and electron microscopy.

RESULTS: Compared to the control group, intestinal transit was significantly delayed, but intestinal SOD, GSH and MDA levels and plasma D-lactate level showed no significant changes in the two high intra-abdominal pressure groups (all $P > 0.05$). Plasma DAO level did not differ significantly between the 10 mmHg group and control group, but was significantly different between the 20 mmHg and control groups (1412.93 ± 1397.19 vs 542.41 ± 314.93 , $P < 0.05$). Under the light microscope, postoperative intestinal mucosa showed no damage in the control group; however, mild (increase in small intestinal subepithelial gaps and villus capillary congestion) and severe (varying degrees of intestinal mucosal changes, small intestinal mucosal congestion and edema, expansion of small intestinal subepithelial gaps, and intestinal villus degeneration, necrosis or loss) pathological changes were observed in the 10 and 20 mmHg groups, respectively. Electron microscopy demonstrated that intestinal villus cells in the 10 mmHg group showed mild swelling of tight junctions, and the 20 mmHg group showed significant changes in the microvilli and mitochondrial structures.

CONCLUSION: High intra-abdominal pressure can delay intestinal transit, alter plasma DAO activity, cause significant damage to intestinal epithelial cells, and increase intestinal permeability.

■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pneumoperitoneum; Intra-abdominal pressure; Motility; Intestinal mucosal barrier; Oxidative stress

Zhao XQ, Chen Y, Kuang XC, Chen Q, Qin H, Meng YY, Ye YK. Intra-abdominal high pressure induces intestinal barrier dysfunction in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3790-3798 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3790.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3790>

摘要

目的: 研究不同程度腹内高压对大鼠肠黏膜屏障功能的影响及可能机制。

方法: 将45只成年♂SD大鼠随机分为对照组、腹内压10和20 mmHg组, 每组15只。运用氮气气腹法制作大鼠腹内高压动物模型, 两气腹组各按维持气腹第1、2、4小时分为3组, 每组5只SD大鼠, 解除气腹后术后24 h用分光光度计测量各组动物不同小肠段蓝色葡聚糖2000浓度的情况, 检测肠黏膜组织匀浆中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、血浆中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和D-乳酸含量, 光镜及电镜下观察肠组织病理形态学变化, 以上各组设有相应对照组, 对照组不充入氮气。

结果: (1)腹内压(intra-abdominal pressure, IAP)为10和20 mmHg组大鼠肠道转运功能明显减弱; (2)两组气腹组肠黏膜SOD、GSH水平及MDA含量与相应对照组比较无显著差异($P>0.05$); (3)血浆D-乳酸与相应对照组比较差异无显著变化; 血浆DAO值在IAP 10 mmHg组与相应对照组比较差异无显著变化, IAP 20 mmHg组与对照组有明显改变($P<0.05$); (4)在光镜下看, 对照组术后肠道黏膜未见明显损害。IAP 10 mmHg组肠黏膜绒毛上皮细胞结构完整, 排列整齐, 小肠黏膜上皮细胞间隙偶尔增大提示小肠绒毛毛细血管充血, IAP 20 mmHg组观察到不同程度的肠黏膜上皮细胞改变, 小肠黏膜淤血, 黏膜上皮水肿, 上皮细胞间隙扩张, 部分肠黏膜绒毛顶端上皮细胞变性、坏死、自绒毛脱落, 部分绒毛顶端破损, 一些腺体显示不清; (5)电镜超微结构分析显示IAP 10 mmHg下肠壁绒毛细胞间紧密连接(tight junction, TJ)轻度肿胀, IAP 20 mmHg下部分视野可见微绒毛变钝, 绒毛倒伏, 线粒体结构不清。

结论: (1)腹内压为10和20 mmHg的N₂气腹可导致SD大鼠肠道转运功能明显减弱; (2)20 mmHg N₂气腹使血浆DAO活性增强, 肠黏膜屏障功能损伤; 而10 mmHg气腹不影响血浆DAO活性和肠黏膜屏障功能; (3)N₂气腹压升高所致肠黏膜氧化应激可能是肠黏膜屏障功能损伤的机制之一; (4)腹腔压力升高能造成小肠上皮细胞的显著损害和细胞间TJ的显著肿胀, 导致肠黏膜通透性增加。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 气腹; 腹内压; 肠蠕动功能; 肠黏膜屏障; 氧化应激

核心提示: (1)腹内压为10 mmHg和20 mmHg的N₂气腹可导致SD大鼠肠道转运功能明显减弱; (2)N₂气腹压升高所致肠黏膜氧化应激可能是肠黏膜屏障功能损伤的机制之一; (3)腹腔压力升高能造成小肠上皮细胞的显著损害和细胞间紧密连接(tight junction)的显著肿胀, 导致肠黏膜通透性增加。

赵晓琴, 陈英, 广晓聪, 陈强, 覃桦, 蒙永毅, 叶永康. 腹内高压对肠黏膜屏障功能损伤的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(34): 3790-3798 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3790.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3790>

0 引言

腹腔室隔综合征(intra-abdominal compartment syndrome, ACS)广义地定义为增加腹内压(intra-abdominal pressure, IAP)增高导致的器官功能障碍, 是多种内外科危重疾病的并发症, 其危害性近年来逐渐被人们认识和重视^[1,2]。我们已发现, 腹内高压(intra-abdominal hypertension, IAH)可导致肠道血流量大幅度降低、产生大量的氧自由基, 在这个过程中可能会损伤肠黏膜屏障, 脂质过氧化作用可能起主要作用。黏膜屏障能保持相对稳定的机体内环境。当酸中毒、氧自由基、细胞因子和炎症介质对肠道黏膜屏障功能损伤后, 肠道细菌内毒素通过肠道黏膜在肠系膜淋巴结、肝、脾及其他组织和器官, 进一步加重原发病的病情, 甚至诱发多器官功能障碍、全身炎症反应综合征等。

本研究的目的在于观察腹腔高压状态下氧化应激对肠道的损害作用。该试验着重于腹内高压时肠黏膜对抗氧化剂的易感性和肠细胞的氧化损伤。通过对肠黏膜氧化还原相关酶的检测及病理形态学、细胞超微结构的观察, 揭示

■ 研发前沿

本文就腹内高压对肠道影响的病理生理及肠黏膜损伤机制做实验研究。

■创新盘点

该试验着重于腹内高压时肠黏膜对抗氧化剂的易感性和肠细胞的氧化损伤。通过对肠黏膜氧化还原相关酶的检测及病理形态学、细胞超微结构的观察,揭示IAH对肠道氧化还原的影响。

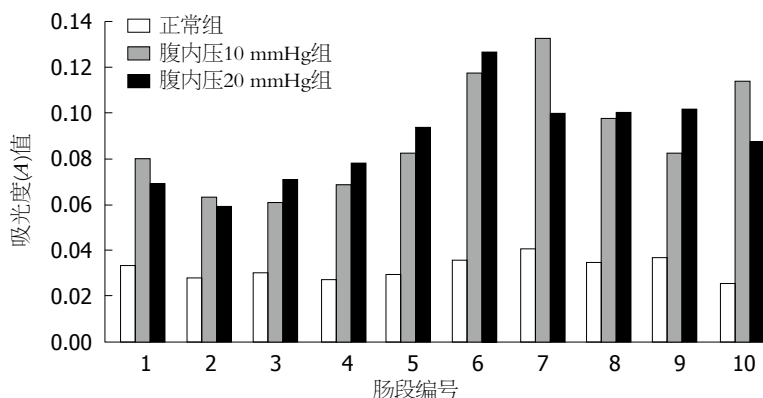


图1 葡聚糖蓝2000在3组小鼠小肠分布情况。

IAH对肠道氧化还原的影响,为临床防治相关疾病提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物45只健康♂SD大鼠(购自广西医科大学动物实验中心),体质量为250-320 g。丙二醛(malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)酶活性检测试剂盒购自南京建成生物公司;紫外分光光度计(LAMB DABIO20, 美国);酶标仪(MK3, Thermo EIECIRON Corporation, 美国);H-600透射电镜(日本日立公司)。

1.2 方法

1.2.1 IAH动物模型制作:采用氮气气腹^[3]动物术前禁食12 h,自由饮水。按照0.35 mL/kg体质量腹腔内注射10%水合氯醛注射液进行动物麻醉。麻醉后仰面固定,腹壁备皮,头皮针通过腹肌穿刺入左腹腔,荷包缝合结扎腹壁穿刺孔。外接气体注入装置充入氮气,维持一定的压力值以制作大鼠IAH模型。

1.2.2 实验过程:依据腹内压力不同将实验动物随机分为腹内压10 mmHg组和20 mmHg组两气腹组各按维持气腹第1、2、4小时分为3组,每组5只SD大鼠对照组(假手术组)不充氮气,解除气腹后立即处死大鼠。参照楼征等^[4]大鼠于处死前1 h,经口灌入2%BD-2000溶液0.4 mL。每组实验末期,正中剖腹5 cm,所有实验组均无静脉输液,以排除其他因素所致的腹内压增高。实验末期,正中剖腹,切取近端空肠5 cm,生理盐水清洗干净,分别做光镜和透射电镜检查。其余肠段于冰上刮取肠黏膜,滤纸吸干水分,-80℃冰箱贮存待测。

统计学处理 定量检测数据用mean±SD表示,应用统计软件SPSS13.0。3组数据间的比较

采用单因素方差分析分析,多个样本均数间的两两比较采用SNK检验。两组间比较采用t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠道蠕动功能的变化 在IAP 20 mmHg组大鼠肠道转运功能明显减弱,其中正常对照组和IAP 10 mmHg组浓度高峰位于下段空肠,IAP 20 mmHg组浓度高峰位于中上段空肠(图1)。

2.2 空肠黏膜改变情况 在光镜下看,对照组术后肠道黏膜未见明显损害,显示正常柱状上皮(图2A)。实验组在IAH后表现从上皮水肿到不同程度蜕变的结构改变,以及绒毛剥脱和萎陷。损害程度与IAH压力和维持的时间相关。IAP 10 mmHg组肠黏膜绒毛上皮细胞结构完整,排列整齐,小肠黏膜上皮细胞间隙偶尔增大提示小肠绒毛毛细血管充血(图2B-D),IAP 20 mmHg组观察到不同程度的肠黏膜上皮细胞改变,小肠黏膜淤血,黏膜上皮水肿,上皮细胞间隙扩张,部分肠黏膜绒毛顶端上皮细胞变性、坏死、自绒毛脱落,部分绒毛顶端破损,一些腺体显示不清(图2E-G)。与IAH维持的时间相关。IAP 20 mmHg 1 h组标本显示柱状上皮不规则变形,胞浆基底空泡形;IAP 20 mmHg 2 h组表皮细胞上浮并在绒毛顶端脱落;IAP 20 mmHg 4 h组显示绒毛广泛脱落、萎陷,绒毛上部的肠上皮细胞上浮,与绒毛分离。

2.3 细胞超微结构改变 透射电镜下观察:紧密连接(tight junction, TJ)和其他超微结构的形态学变化如图3。正常对照组TJ完整(图3A),其他超微结构正常。黏膜屏障功能正常。腹内压10 mmHg组:A组,在IAH 10 mmHg维持1 h情况下,TJ轻度疏松,线粒体结构清晰(图3B)。B组,IAH 10 mmHg维持2 h,TJ轻度疏松,线粒体清晰(图3C)。C组,IAH 10 mmHg维持4 h,TJ明显膨胀,线粒体结构

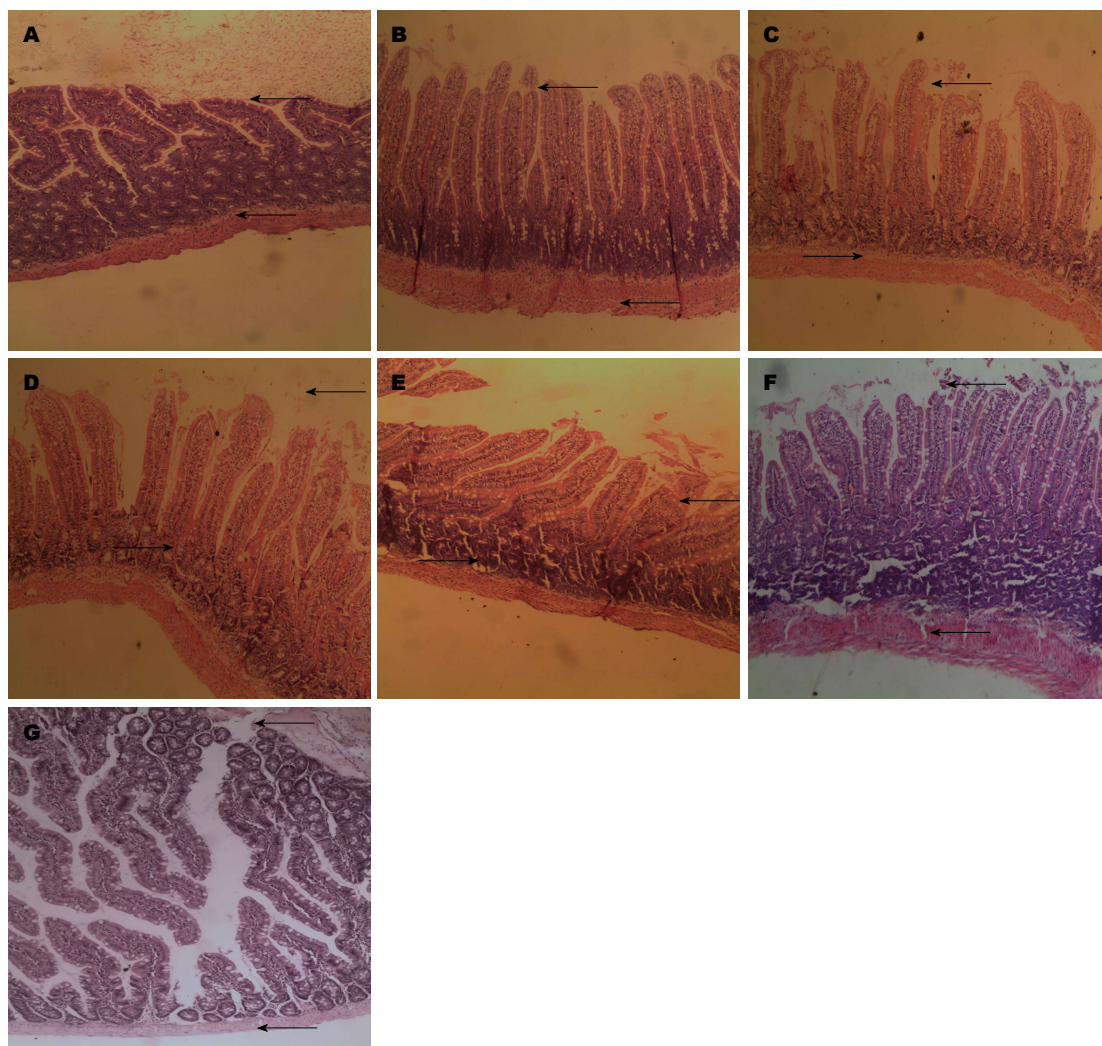


图2 空肠黏膜组织病理图(HE染色, $\times 100$)。A: 正常对照组; B: 腹内压10 mmHg 1 h; C: 腹内压10 mmHg 2 h; D: 腹内压10 mmHg 4 h; E: 腹内压20 mmHg 1 h; F: 腹内压20 mmHg 2 h; G: 腹内压10 mmHg 4 h。

■应用要点
腹内压增高导致的器官功能障碍, 是多种内外科危重疾病的并发症, 其危害性近年来逐渐被人们认识和重视。本研究的目的在于观察腹腔高压状态下氧化应激对肠道的损害作用, 为临床防治相关疾病提供实验依据。

模糊(图3D)。腹内压20 mmHg组: D组, 在IAH 20 mmHg维持1 h情况下, TJ轻度疏松, 线粒体结构模糊(图3E)。E组, IAH 20 mmHg维持2 h, TJ肿胀, 线粒体出现灶性空化, 嵴断裂, 绒毛倒伏, 与肠上皮细胞分离(图3F)。F组, IAH 20 mmHg维持4 h, TJ和细胞周围明显膨胀, 线粒体出现灶性空化, 嵴断裂; 黏着的上皮细胞明显松散, 部分视野可见微绒毛变钝, 倒伏(图3G)。提示IAH状态下, TJ完全疏松, 上皮通透性显著增加。

2.4 腹内压对肠黏膜组织中氧化应激指标的影响 两组气腹组肠黏膜SOD、GSH水平及MDA含量与相应对照组比较差异不显著($P>0.05$)。结果表明, 不同压力大小及作用时间没有改变氧化还原物质MAD、GSH及氧化还原相关酶SOD的活性(表1-3)。

2.5 血浆中D-乳酸值与二胺氧化酶含量测定结果 血浆D-乳酸与相应对照组比较差异无显著变

化; 血浆二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)值在IAP 10 mmHg组与相应对照组比较差异无显著变化, IAP 20 mmHg组与对照组有明显改变($P<0.05$)(表4, 5)。

3 讨论

早在19世纪末20世纪初, 人们已经认识到增高的腹内压可以导致呼吸功能的减弱, 与IAH相关的其他器官功能恶化。1984年, Kron和他的同事就认识到ACS, IAH具有破坏性的结果。腹内压升高, 胃肠道反应最为敏感, 是最早受损的器官。小肠黏膜缺血程度与腹内压水平有着密切的关系, 增加腹内压, 肠缺血程度越严重。我们以往研究表明, IAH可导致呼吸、循环功能的紊乱, 并显著降低肠黏膜血流量。程君涛等^[5]指出增加腹内压增高引起的小肠血流量显著降低, 20和30 mmHg肠黏膜血流量较正常对照组减少44%和80%。

同行评价

本文科研创造性较强,对临床的医疗实践具有较大的理论指导意义。

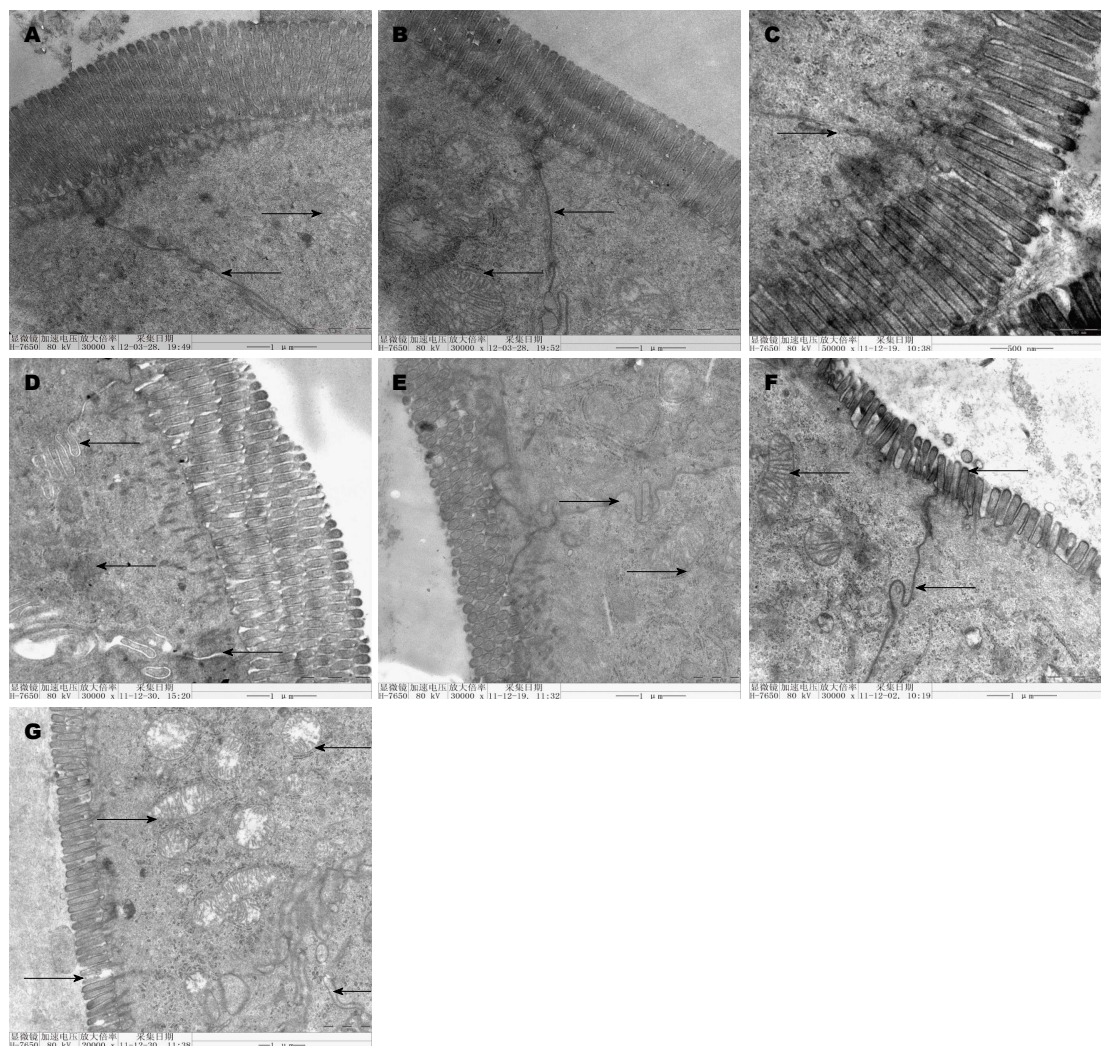


图3 各组大鼠小肠壁超微结构改变。A: 正常对照组($\times 30000$); B: 腹内压10 mmHg 1 h($\times 30000$); C: 腹内压10 mmHg 2 h($\times 50000$); D: 腹内压10 mmHg 4 h($\times 30000$); E: 腹内压20 mmHg 1 h($\times 30000$); F: 腹内压20 mmHg 2 h($\times 30000$); G: 腹内压20 mmHg 4 h($\times 20000$)。

造成ACS的方法很多,可以有林格氏液、等渗盐水、聚乙二醇以及二氧化碳吹入法来增加IAP^[6,7]。本研究应用氮气吹入法增加IAP,方法简便、经济、安全。2006年腹腔间隔室综合征世界联合会(World Society of the Abdominal Compartment Syndrome, WSACS)第二次会议中将腹腔内高压及腹腔间隔室综合征的定义统一下来。定义为在标准测压中记录到的IAP数值持续 ≥ 12 mmHg。腹腔室间隔综合征是指IAP数值逐渐稳定上升,并且 >20 mmHg[伴或不伴有腹腔灌注压(abdominal perfusion pressure, APP) <60 mmHg],同时合并有新的器官功能障碍和衰竭^[8]。最近的研究表明,相对较低的腹内压(10-15 mmHg)也可引起器官功能的明显改变^[9]。程君涛等^[10]在新西兰兔的气腹模型研究中发现“IAP >20 mmHg可导致明显的低氧血症、高碳酸血症及酸中毒,30 mmHg持续2 h以上可导致全部动物的死亡”。

该项研究的预实验中我们观察到当IAP达到25 mmHg时,只有1只大鼠存活时间超过4 h,其余大鼠在4 h内全部死亡;当IAP达到30 mmHg时,只有1只大鼠存活超过90 min,其余大鼠存活时间均没达到1 h。因此,我们选择了10 mmHg和20 mmHg作为IAP不利影响的检查。

正常生理状态下,肠黏膜屏障可阻止肠腔中细菌、毒素进入机体并维持机体内环境的相对稳定^[11]。肠上皮细胞和具有特别结构的上皮细胞间紧密连接构成的机械屏障是最重要的组成部分。危重病患者胃酸分泌减少^[12],加之H₂受体阻滞剂的应用,胃肠道内微生态环境失衡,胃和结肠内条件致病菌大量繁殖,并向小肠内迁移,经破溃的肠黏膜屏障侵入循环系统细菌内毒素易位^[13],进而导致脓毒血^[14]。Border等^[15]认为,胃肠道黏膜屏障破损,经久不愈,所以在消化系统中的细菌和毒素持续侵入循环血内,激活全身

表 1 大鼠肠黏膜匀浆丙二醛含量($n = 15$, mean \pm SD, nmol/mL)

分组	气腹维持时间 (h)		
	1	2	4
对照组	0.032 \pm 0.022	0.064 \pm 0.059	0.022 \pm 0.013
腹内压10 mmHg组	0.024 \pm 0.020	0.022 \pm 0.010	0.043 \pm 0.020
腹内压20 mmHg组	0.034 \pm 0.012	0.041 \pm 0.014	0.049 \pm 0.022
<i>P</i> 值	0.398	0.504	

表 2 大鼠肠黏膜匀浆还原型谷胱甘肽含量($n = 15$, mean \pm SD, mol/mL)

分组	气腹维持时间		
	1	2	4
对照组	28.564 \pm 13.161	31.749 \pm 23.165	28.650 \pm 12.000
腹内压10 mmHg组	27.750 \pm 8.778	38.025 \pm 20.298	19.362 \pm 8.574
腹内压20 mmHg组	30.604 \pm 5.166	32.150 \pm 7.141	24.027 \pm 10.874
<i>P</i> 值	0.594	0.126	

表 3 大鼠肠黏膜匀浆超氧化物歧化酶含量($n = 15$, mean \pm SD, mol/mL)

分组	气腹维持时间(h)		
	1	2	4
对照组	3.853 \pm 3.506	3.321 \pm 1.206	1.909 \pm 0.811
腹内压10 mmHg组	2.237 \pm 1.512	2.028 \pm 1.512	4.138 \pm 2.594
腹内压20 mmHg组	2.251 \pm 0.229	2.0035 \pm 0.748	3.673 \pm 1.441
<i>P</i> 值	0.704	0.802	

白细胞系统,特别是单核-巨噬细胞系统,持续释放大量的细胞因子和炎症介质,导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)失控,最终发展为多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。

肠蠕动功能状态是影响危重患者病程和预后的因素之一。一旦肠蠕动恢复,即可进行肠内营养(enteral nutrition, EN),这对于维持肠黏膜的完整性有重要意义。当腹腔高压时,往往导致肠黏膜缺血缺氧损害,肠蠕动功能障碍,严重者可出现中毒性肠麻痹。既往多采用碳素墨汁活性炭灌胃的方法进行研究。本实验利用分光光度计结合肠道比例法进行大鼠肠蠕动功能研究。本实验表明肠道转运功能的变化在IAP 20 mmHg组大鼠肠道转运功能明显减弱,在IAP 10 mmHg组改变不明显,提示IAP 20 mmHg可以导致肠蠕动功能障碍。

D-乳酸是肠道细胞特有的代谢产物,不参与体内的代谢过程,D-乳酸可作为反映肠道组

织缺血缺氧的客观指标,其变化可反映肠道组织氧合代谢状态。当肠道发生急性缺血时,生物屏障肠黏膜受损,肠道细菌产生大量的D-乳酸,通过受损的肠黏膜进入血液循环中,检测血浆中的D-乳酸含量可即时反映肠黏膜通透性的改变和受损程度。这个实验表明模型组血浆D-乳酸水平在IAH维持2 h后达高峰后又下降,IAH 20 mmHg组D-乳酸值明显高于10 mmHg组,但是无统计学意义($P > 0.05$),考虑存在其他损伤机制,可能缺血再灌注损伤起了主要作用。孙晓庆等^[16]报道:缺血1.0-1.5 h血浆D-乳酸水平在再灌注1 h达高峰后呈下降趋势。

肠上皮细胞和肠上皮细胞紧密连接形成肠黏膜屏障肠黏膜是最重要的。肠上皮细胞内存在的DAO,它是一种高活性的细胞酶,在人类和所有哺乳动物的肠上皮细胞中存在。其活性与小肠绒毛高度和黏膜细胞的核酸和蛋白质的合成密切相关^[17],人类绒毛顶部小肠DAO活性尤其高^[18]。

血浆中DAO活性相对稳定,其含量增加与

表 4 血浆D-乳酸含量($n = 15$, mean \pm SD, mg/L)

分组	气腹维持时间(h)		
	1	2	4
对照组	195.15 \pm 189.89	81.72 \pm 68.20	66.97 \pm 37.95
腹内压10 mmHg组	93.55 \pm 40.62	161.56 \pm 137.81	104.10 \pm 41.93
腹内压20 mmHg组	177.41 \pm 159.70	210.22 \pm 203.40	178.90 \pm 117.03
<i>P</i> 值	0.229		

表 5 血浆中二胺氧化酶含量($n = 15$, mean \pm SD, U/mL)

分组	气腹维持时间(h)		
	1	2	4
对照组	668.95 \pm 292.17	391.68 \pm 149.73	566.59 \pm 436.11
腹内压10 mmHg组	813.79 \pm 539.31	1792.66 \pm 1274.46	1256.15 \pm 847.55
腹内压20 mmHg组	1384.97 \pm 997.80 ^a	2410.06 \pm 1750.48 ^a	1261.12 \pm 246.72 ^a
<i>P</i> 值	0.04		

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

肠上皮细胞受损后细胞膜通透性增加和细胞坏死是密切相关的,可以直接反映构成肠黏膜屏障得肠上皮细胞的破坏和修复状态^[19].因此检测外周血DAO可以较好地反应小肠黏膜屏障功能,有学者认为检测外周血DAO活动能够反映肠道损伤状态^[20],是反映肠黏膜的完整性的血浆标志物^[21].

本实验显示10 mmHg组血浆DAO活性与相应的对照组血浆DAO活性相比较无显著性差异($P > 0.05$); 20 mmHg组血浆DAO活性和相应的对照组血浆DAO活性相比较,差异显著($P = 0.04$, $P < 0.05$).提示20 mmHg气腹损伤小肠黏膜屏障功能. 10 mmHg气腹对小肠黏膜屏障功能不产生影响.有文献报道,使用N₂气体,形成高腹内压气腹模型在腹内压20 mmHg和10 mmHg分别维持1 h,解除气腹后立即检测血浆DAO活性,发现腹腔内压力20 mmHg时的血浆DAO活性高于10 mmHg时,差异显著($P < 0.05$),正常对照组与10 mmHg的活性无显著差异($P > 0.05$)^[22],本实验与之有相近之处.

胃肠黏膜屏障破坏是危重病患者并发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)最初的病理生理反应^[23].研究表明氧自由基损伤是引起胃肠黏膜屏障破坏的重要病理因素^[24,25].氧自由基介导的脂质过氧化反应是细胞膜损害和破碎的重要原因.并且氧自由基除了直接作用,还能激活白细胞的聚集并

由此造成组织的间接损伤.本实验进一步证实,IAH可导致肠道氧化还原状态的改变,这可能是导致肠黏膜屏障功能损害的重要原因之一.氧自由基的生成主要通过黄嘌呤氧化酶系和髓过氧化物酶系,其中主要为MDA,故检测肠黏膜组织中MDA含量,可反映肠道脂质过氧化损伤^[26],间接反映出机体细胞受氧自由基攻击的严重程度.GSH是体内抗氧化防御系统的主要组成部分,起着重要的作用,能拮抗外源性毒素,氧自由基损伤,调节机体免疫功能,抑制细胞凋亡,以维持细胞蛋白的结构和功能.

正常状态下,体内抗氧化物质和氧化性物质通过各种酶和蛋白质的精密基因表达调控,保持氧化还原状态处于动态平衡^[27].抗氧化酶系统在活性氧清除的过程中起了极其重要的作用.SOD是广泛存在于动植物体内的一类金属酶,能够催化超氧阴离子等自由基发生歧化反应,维持体内氧自由基动态平衡.超氧阴离子在超氧化物歧化酶SOD(包括Mn-SOD和Cu/Zn-SOD)的作用下发生了电子转移,生成H₂O₂, Cu/Zn-SOD在CAT作用下转变为无毒性的H₂O分子,从而达到氧自由基的清除.我们研究表明两组气腹组肠黏膜SOD、GSH水平均与相应对照组略有减少,MDA有增加,但无统计学意义($P > 0.05$).提示通过氧化应激可以造成肠黏膜的损害,但不是唯一,除上述氧化还原应激指标外,IAH还可能通过其他机制造成肠黏膜组织结

构的损害. 近年研究表明^[28], 缺血/再灌注损伤也可能导致ACS. 预计在此类型的损伤是可逆的变化, 但在高温的IAP, 组织可能不可逆的损坏.

目前认为线粒体损伤是细胞缺血缺氧损害的一个中心环节, 其对于缺血缺氧等因素十分敏感. 近年研究表明, 线粒体在细胞凋亡中起着中心调控的作用, 是决定细胞凋亡或坏死的共同通路. 但关于缺血缺氧线粒体结构与功能损害的原因尚不完尚不完全清楚, 目前认为与氧化应激等有关^[29]. 肠道覆盖单层柱状上皮细胞, 并由一系列TJ紧密相连. 单层上皮细胞和细胞间TJ, 通过选择性溶质转运, 同时防止有害物质的进入肠腔中的功能成为肠屏障功能. 肠道可以防止有害物质的侵袭肠屏障功能. 上皮细胞的屏障功能受到上皮细胞顶部细胞间的TJ调节. TJ由跨膜蛋白组成, 并由胞质斑蛋白、zonula occludens-1与细胞骨架连接^[30]. 本研究发现, 当腹内压为10 mmHg时, TJ轻度骨质疏松; 腹内压达20 mmHg时, 肠黏膜细胞结构变化显著, TJ显著扩大. 然而, TJ破坏和ACS之间的关系尚不清楚. ACS对肠屏障功能的损害可能有如下两种原因: (1)肠黏膜缺血: 大量的研究表明, 增加腹压, 减少内脏灌注, 以减少肠黏膜的血液供应. Turner等^[31]观察到, IAP 20 mmHg时, 心输出量没有变化显著, 但肠系膜上动脉和黏膜血流量显著减少. Diebel等^[32]也观察到, 猪IAH模型随腹内压增加, 心输出量和血压在正常范围内, 然而肠黏膜和系膜血流量显著下降. 肠黏膜缺血是肠屏障功能障碍的一个重要机制^[33]; (2)TJ形成了一个物理屏障能抵挡有毒抗原和预防肠道细菌易位的发生. 黏膜的TJ破坏显著降低了肠黏膜的屏障功能. 本研究结果表明, IAH造成了肠黏膜屏障的严重损害, 肠上皮细胞和肠道紧密连接的显著扩张, 导致黏膜屏障通透性增加, 细菌通过疏松的TJ, 形成脓毒症. 这也许可以解释为什么IAH常引起细菌易位和脓毒症, 甚至多器官功能障碍.

志谢: 感谢邝晓聪、莫非、秦志丹及曹卫在本试验中给予的大力帮助.

4 参考文献

- 1 Malbrain ML, Vidts W, Ravyts M, De Laet I, De Waele J. Acute intestinal distress syndrome: the importance of intra-abdominal pressure. *Minerva Anesthesiol* 2008; 74: 657-673 [PMID: 18636062]
- 2 黎介寿. 腹腔间室综合征. 肠外与肠内营养 2004; 11: 322-323
- 3 程君涛, 肖光夏, 夏培元, 袁建成, 秦孝建. 腹内高压对

- 4 兔肠道通透性及内毒素细菌移位的影响. *中华烧伤杂志* 2003; 19: 229-232
- 4 楼征, 黎介寿, 任建安, 范朝刚. 腹腔感染及腹腔高压影响肠蠕动功能的实验研究. *肠外与肠内营养* 2007; 14: 326-329
- 5 程君涛, 肖光夏, 夏培元, 袁建成, 秦孝建. 腹内高压致肠黏膜屏障损伤的实验研究. *中华烧伤杂志* 2006; 22: 83-87
- 6 Schachtrupp A, Graf J, Tons C, Hoer J, Fackeldey V, Schumpelick V. Intravascular volume depletion in a 24-hour porcine model of intra-abdominal hypertension. *J Trauma* 2003; 55: 734-740 [PMID: 14566131 DOI: 10.1097/01.TA.0000042020.09010.D7]
- 7 Malbrain ML, Chiumello D, Pelosi P, Bihari D, Innes R, Ranieri VM, Del Turco M, Wilmer A, Brienza N, Malcangi V, Cohen J, Japiassu A, De Keulenaer BL, Daelemans R, Jacquet L, Laterre PF, Frank G, de Souza P, Cesana B, Gattinoni L. Incidence and prognosis of intraabdominal hypertension in a mixed population of critically ill patients: a multiple-center epidemiological study. *Crit Care Med* 2005; 33: 315-322 [PMID: 15699833]
- 8 Cirocchi R, Barillaro I, Boselli C, Covarelli P, Grassi V, Cacurri A, Koltraka B, Santoro A, Spizzirri A, Trastulli S, Di Patrizi M, Pressi E, Gullà N, Noya G, Sciannoneo F. [The abdominal compartment syndrome and the importance of decompressive re-laparotomy]. *G Chir* 2010; 31: 560-574 [PMID: 21232205]
- 9 Malbrain ML, Deeren D, De Potter TJ. Intra-abdominal hypertension in the critically ill: it is time to pay attention. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 156-171 [PMID: 15758597 DOI: 10.1097/01.ccx.0000155355.86241.1b]
- 10 程君涛, 肖光夏, 张诚华, 李小毅. 改良腹内高压动物模型制作及动脉血气分析. *第三军医大学学报* 2005; 27: 2189-2190
- 11 黄英, 易成, 龙洋, 赵秋玲, 江从勋, 崔勇霞, 贺荣华, 王树人. 重组人生长激素对败血症大鼠肠黏膜屏障功能保护作用的机制研究. *四川大学学报(医学版)* 2006; 37: 10-13
- 12 朱立, 杨宗诚, 黎鳌. 严重烧伤休克期大鼠胃酸分泌功能的改变及其意义. *中国危重病急救医学* 1997; 9: 398-399
- 13 刘金保, 冉丕鑫. 粘附分子在缺血再灌注损伤中的作用. *国外医学生理学与病理学临床分册* 1997; 17: 247-248
- 14 Diebel LN, Dulchavsky SA, Brown WJ. Splanchnic ischemia and bacterial translocation in the abdominal compartment syndrome. *J Trauma* 1997; 43: 852-855 [PMID: 9390500]
- 15 Border JR. Multiple systems organ failure. *Ann Surg* 1992; 216: 111-116 [PMID: 1503515 DOI: 10.1097/0000658-199208000-00001]
- 16 孙晓庆, 吕艺, 晋桦, 黎君友, 姜小国, 胡森, 付小兵. 大鼠肠缺血-再灌注损伤对肠黏膜通透性的影响. *创伤外科杂志* 1999; 1: 208-210
- 17 Kaya Y, Coskun T, Demir MA, Var A, Ozsoy Y, Aydemir EO. Abdominal insufflation-deflation injury in small intestine in rabbits. *Eur J Surg* 2002; 168: 410-417 [PMID: 12463432 DOI: 10.1080/110241502320789104]
- 18 Sukhotnik I, Bejar J, Sruogo I, Krausz MM, Bernshteyn A, Hirsh M, Mogilner JG. Adverse effects of increased intra-abdominal pressure on small bowel structure and bacterial translocation in the rat. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2006; 16: 404-410 [PMID: 16968194]
- 19 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿. CO₂气腹对肠道菌群生

- 物学特性影响的实验研究. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1649-1650
- 20 Unsal MA, Imamoglu M, Kadioglu M, Aydin S, Ulku C, Kesim M, Alver A, Kalyoncu NI, Yaris E, Bozkaya H. The acute alterations in biochemistry, morphology, and contractility of rat-isolated terminal ileum via increased intra-abdominal pressure. *Pharmacol Res* 2006; 53: 135-141 [PMID: 16266810 DOI: 10.1016/j.phrs.2005.09.010]
- 21 Cay A, Imamoglu M, Unsal MA, Aydin S, Alver A, Akyol A, Sarihan H. Does anti-oxidant prophylaxis with melatonin prevent adverse outcomes related to increased oxidative stress caused by laparoscopy in experimental rat model? *J Surg Res* 2006; 135: 2-8 [PMID: 16564544]
- 22 程君涛, 肖光夏, 夏培元, 袁建成, 秦孝建. 腹内高压对兔肠道通透性及内毒素细菌移位的影响. *中华烧伤杂志* 2003; 19: 229-232
- 23 陈德昌, 景炳文, 李红江, 杨兴易. 大黄对危重症患者系统炎症反应治疗作用的机理研究. *中国危重病急救医学* 2000; 12: 584-587
- 24 陈德昌, 李红江. 大黄对烫伤后大鼠体内氧自由基的清除作用. *中国中西医结合急救杂志* 2000; 7: 21-23
- 25 高金生, 杨书良. 肠黏膜屏障损伤的原因与机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1540-1544
- 26 Ozmen MM, Zulfikaroglu B, Besler TH, Col C, Cinel L, Cinel I. The correlation between reactive oxygen species and histopathology of the liver, gut, and kidneys in animals with elevated intra-abdominal pressure. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2009; 19: 339-343 [PMID: 19397391 DOI: 10.1089/lap.2008.0293]
- 27 Foyer CH, Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11: 861-905 [PMID: 19239350]
- 28 Cheatham ML, Malbrain ML, Kirkpatrick A, Sugrue M, Parr M, De Waele J, Balogh Z, Leppaniemi A, Olvera C, Ivatury R, D'Amours S, Wendon J, Hillman K, Wilmer A. Results from the International Conference of Experts on Intra-abdominal Hypertension and Abdominal Compartment Syndrome. II. Recommendations. *Intensive Care Med* 2007; 33: 951-962 [PMID: 17377769]
- 29 刘志刚, 肖南, 刘韧, 田昆仑, 刁有芳. 失血性休克及复苏后不同组织代谢变化与组织损伤差异性的研究. *中国病理生理杂志* 2002; 18: 701-703
- 30 Turner JR. Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol* 2006; 169: 1901-1909 [PMID: 17148655 DOI: 10.2353/ajpath.2006.060681]
- 31 Turner JR, Rill BK, Carlson SL, Carnes D, Kerner R, Mrsny RJ, Madara JL. Physiological regulation of epithelial tight junctions is associated with myosin light-chain phosphorylation. *Am J Physiol* 1997; 273: C1378-C1385 [PMID: 9357784]
- 32 Diebel LN, Dulchavsky SA, Brown WJ. Splanchnic ischemia and bacterial translocation in the abdominal compartment syndrome. *J Trauma* 1997; 43: 852-855 [PMID: 9390500]
- 33 Hunter JD, Damani Z. Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome. *Anaesthesia* 2004; 59: 899-907 [PMID: 15310355 DOI: 10.1111/j.1365-2044.2004.03712.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



AMA/AMA-M2阴性原发性胆汁性肝硬化患者的临床及病理特征

刘卫英, 肖琳, 银皓, 詹欣宇, 张泽高, 鲁晓攀, 张跃新

刘卫英, 肖琳, 银皓, 詹欣宇, 张泽高, 鲁晓攀, 张跃新, 新疆医科大学第一附属医院感染科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

刘卫英, 在读研究生, 主要从事慢性肝病的临床研究.

作者贡献分布: 本研究的设计、实施及论文写作由肖琳和刘卫英完成; 银皓、詹欣宇、鲁晓攀及张跃新参与研究; 数据分析由张泽高完成

通讯作者: 肖琳, 副教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院感染科. 15899862686@163.com

电话: 0991-4362823

收稿日期: 2013-07-16 修回日期: 2013-10-02

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Clinical and pathological features of primary biliary cirrhosis in anti-mitochondria antibody/anti-mitochondrial antibody M2 subtype negative patients

Wei-Ying Liu, Lin Xiao, Hao Yin, Xin-Yu Zhan, Ze-Gao Zhang, Xiao-Bo Lu, Yue-Xin Zhang

Wei-Ying Liu, Lin Xiao, Hao Yin, Xin-Yu Zhan, Ze-Gao Zhang, Xiao-Bo Lu, Yue-Xin Zhang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Lin Xiao, Associate Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 15899862686@163.com

Received: 2013-07-16 Revised: 2013-10-02

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To improve the level of awareness and diagnosis of primary biliary cirrhosis (PBC) by exploring the clinical and pathological features of PBC in patients who are negative for anti-mitochondria antibody (AMA)/anti-mitochondrial antibody M2 subtype (AMA-M2).

METHODS: A retrospective study was carried out in 101 patients with PBC. Clinical manifestations, biochemical, immunological and histopathological data were analyzed. The clinical

and pathological features were compared between 50 AMA/AMA-M2 negative patients and 51 AMA/AMA-M2 positive patients.

RESULTS: The ratio of male to female in the 101 patients with PBC was 1.1:9, and the mean age at diagnosis was 48.52 ± 8.99 years. Common manifestations were fatigue (30.7%), jaundice (29.7%), pruritus (19.8%), dry mouth (12.9%), dry eye (7.9%), hepatalgia (7.9%), lipomyoma (6.9%), anorexia (5.9%), and abdominal distension (1.98%). There were no significant differences in manifestation between the AMA/AMA-M2 negative group and AMA/AMA-M2 positive group. There were also no significant differences in routine blood indices [white blood cells (WBC), hemoglobin (Hb), red blood cells (RBC), and platelet (PLT)], biochemical indices [aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), AST/ALT, alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamine transpeptidase (GGT), total bilirubin (TBIL), total protein (TP), albumin (ALB), triglycerides (TG), and total cholesterol (TC)], coagulation function [prothrombin time activity (PTA), international normalized ratio (INR)], C3, C4, and histopathology between the two groups. γ -globulin, IgG and IgM in the AMA/AMA-M2 positive group were significantly higher than those in the AMA/AMA-M2 negative group ($F = 0.019$, $Z = 0.028$, 0.012 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: AMA/AMA-M2 negative PBC has no specific clinical manifestations. There may be difference in immune state between the AMA/AMA-M2 positive group and AMA/AMA-M2 negative group. Liver histology is still a gold standard for diagnosis of AMA/AMA-M2 negative PBC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Biliary; Pathology; Clinical features; Anti-mitochondria antibody; Anti-mitochondrial antibody M2 subtype

Liu WY, Xiao L, Yin H, Zhan XY, Zhang ZG, Lu XB, Zhang YX. Clinical and pathological features of primary

■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种自身免疫介导的慢性进行性胆汁淤积性肝病, 中年女性多见。血清抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)或抗线粒体抗体M2型(AMA-M2)阳性, 是诊断PBC的特异性指标, 但部分患者AMA/AMA-M2均阴性。PBC的发病机制不清楚, 可能与环境因素、生活习惯、自身免疫性及个体易感性密切相关。

■同行评议者

施晓雷, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院

■研究前沿

随着新的检测手段不断发展及对PBC认识水平的不断提高, PBC的确诊率逐年升高, 但对AMA/AMA-M2阴性的患者容易误诊。

biliary cirrhosis in anti-mitochondria antibody/anti-mitochondrial antibody M2 subtype negative patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(34): 3799-3805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3799.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3799>

摘要

目的: 通过探讨抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)/AMA-M2阴性原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)患者的临床表现及肝脏组织学病理特征, 提高对PBC的认识和诊断水平。

方法: 回顾性分析101例PBC患者的临床表现、生物化学、免疫学及病理学资料。比较50例AMA/AMA-M2阴性和51例AMA/AMA-M2阳性PBC患者的临床和病理学特征。

结果: 101例PBC患者中, 男女比例为1.1: 9, 平均年龄为48.52岁±8.99岁, 临床表现为乏力(30.7%)、黄疸(29.7%)、皮肤瘙痒(19.8%)、口干(12.9%)、眼干(7.9%)、肝区疼痛(7.9%)、脂黄瘤(6.9%)、纳差(5.9%)、腹胀(1.98%)等。AMA/AMA-M2阴性PBC和AMA/AMA-M2阳性PBC患者的临床表现、血常规[白细胞(white blood cells, WBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞(red blood cells, RBC)、血小板(platelet, PLT)]、生化指标[门冬氨酸氨基转氨酶(aspartate aminotransaminase, AST)、丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、AST/ALT、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(glutamine peptide enzyme, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)]、凝血指标[凝血酶原活动度(prothrombin activity/prothrombin time activity, PTA)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)]、C3、C4、影像学及肝脏组织学表现上差异均无统计学意义。AMA/AMA-M2阳性PBC组与AMA/AMA-M2阴性PBC组比较, γ-球蛋白、IgG、IgM差异具有统计学意义($F = 0.019$, Z 值分别为0.028, 0.012, 均 $P < 0.05$)。

结论: AMA/AMA-M2阴性的PBC患者临床表现缺乏特异性, AMA/AMA-M2阳性PBC患者与AMA/AMA-M2阴性PBC患者免疫状态可能存在差异。肝脏组织病理学检查仍然是诊断AMA/AMA-M2阴性PBC的金标准。

关键词: 肝硬化; 胆汁性; 病理学; 临床特点; 抗线粒体抗体; 抗线粒体抗体-M2

核心提示: 抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)/AMA-M2阴性原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)临床表现无特异性, 但AMA/AMA-M2阳性PBC组γ-球蛋白、IgG、IgM较AMA-M2阴性PBC组明显升高。肝脏组织病理学检查仍然是诊断AMA/AMA-M2阴性PBC的金标准。

刘卫英, 肖琳, 银皓, 詹欣宇, 张泽高, 鲁晓攀, 张跃新. AMA/AMA-M2阴性原发性胆汁性肝硬化患者的临床及病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3799-3805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3799.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3799>

0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种自身免疫介导的慢性进行性胆汁淤积性肝病, 以肝内中小胆管非化脓性炎症损伤为病理特征, 可进一步进展为肝纤维化、肝硬化和肝功能衰竭^[1]。目前其病因及发生机制尚不明确, 认为与环境因素、生活习惯、自身免疫性及个体易感性密切相关^[2-5]。本病好发于中老年女性, 临床表现缺乏特异性, 进展隐匿, 尚无特效的治疗药物, 晚期预后差。因此早期诊断对于防止不良预后具有重要意义。大部分PBC患者中可检测出抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)或抗线粒体抗体M2型(anti-mitochondrial antibody M2 subtype, AMA-M2)阳性, 仍有部分患者此抗体均阴性, 极易漏诊、误诊。本研究通过分析PBC患者中AMA/AMA-M2阴性者的临床表现及病理特征, 旨在提高对本病的认识和诊疗水平。

1 材料和方法

1.1 材料 选择于2002-01/2012-12在新疆医科大学第一附属医院感染科住院并行肝组织活检的PBC患者101例为研究对象, 排除病毒、酒精、肥胖、药物、血吸虫等因素引起的肝脏损伤。

1.2 方法

1.2.1 观察指标: (1)临床表现: 包括一般情况(性别、年龄、从出现症状至确诊的时间)、临床症状、体征和伴发其他自身免疫性疾病; (2)实验室指标: 所有患者均禁食8 h, 次日清晨采集空腹血进行检测。生物化学指标: 白细胞(white blood cell, WBC)、红细胞(red blood cell, RBC)、血红

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

蛋白(hemoglobin, Hb)、血小板(platelet, PLT)、甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、门冬氨酸氨基转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、AST/ALT、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰胺转氨酶(glutamine peptide enzyme, GGT)及 γ -球蛋白, 采用日本OLYMPUS全自动生化分析仪及其配套试剂检测血液生化指标; PTA、INR采用美国贝克曼ACL-9000型全自动血凝仪及其配套试剂检测指标. 免疫学指标IgG、IgM、C3、C4、AMA或AMA-M2、抗核抗体(antinuclear antibodies, ANA), 采用间接免疫荧光法检测; (3)肝组织学检查: 肝组织穿刺活检前均与患者签署知情同意书, 在B超引导下, 采用I-1AXCORE一次性全自动组织穿刺针(16 G, 美国巴德公司)经皮肤行肝穿刺获取肝组织标本, 每例肝组织标本长度均1.5-2.0 cm, 包含10个以上完整的汇管区. 用10%甲醛固定, 常规脱水、石蜡包埋固定, 制成厚度为4 μ m连续切片, 行常规HE染色、网状纤维及Masson染色, 均由本院病理科2名资深医师分别阅片, 病理分期参照文献标准^[6]. 病理学检查证实肝组织均存在不同程度肝内中小胆管破坏.

1.2.2 诊断标准: PBC诊断根据2009年美国肝病研究协会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)制定的诊断标准^[7]. 符合以下主要临床特征条件中至少2条: (1)ALP>2倍正常值上限或GGT>5倍正常值上限超过6 mo; (2)AMA或AMA-M2阳性; (3)小胆管损害的特征性病理学改变. 诊断标准中, PBC的诊断并非必须依靠组织学检查, 但AMA阴性的PBC患者仍需肝组织活检, 发现小胆管的特征性病理改变, 具有诊断意义.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析处理, 计数资料以例数及百分率表示, 采用 χ^2 检验; 正态分布的计量资料以mean \pm SD表示, 采用 t 检验; 非正态分布的计量资料用中位数和四分位数间距描述, 采用秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 101例PBC患者中, 男11例, 女90例, 男女比为1.1:90, 首次确诊时的年龄23-73岁, 平均年龄为48.52岁 \pm 8.99岁. 其中汉族87例

(占91.6%), 其他民族14例(占8.4%), 其中维吾尔族11例, 回族1例, 哈萨克族2例. 发病至确诊时间1-72 mo, 平均17.66 mo \pm 14.13 mo. 101例PBC患者中伴发其他自身免疫性疾病者25例(24.75%), 其中自身免疫性肝炎13例(12.87%)、甲状腺功能减退5例(4.95%)、干燥综合征2例(1.98%)、系统性红斑狼疮2例(1.98%)、类风湿性关节炎1例(0.99%)、雷诺综合征1例(0.99%)、骨质疏松1例(0.99%). 就诊时的临床表现依次为乏力(30.7%)、黄疸(29.7%)、瘙痒(19.8%)、脾大(15.84%)、口干(12.9%)、眼干(7.9%)、肝区疼痛(7.9%)、脂黄瘤(6.9%)、纳差(5.9%)、腹胀(1.98%)等. 比较AMA/AMA-M2阳性和AMA/AMA-M2阴性的2组PBC患者的临床表现, 差异均无统计学意义(表1).

2.2 生化指标 101例PBC患者实验室检查指标均有不同程度的异常, AMA/AMA-M2阳性和AMA/AMA-M2阴性两组间比较, WBC、Hb、RBC、PLT、TG、TC、ALT、AST、AST/ALT、ALP、GGT、TBIL、TP、ALB、PTA、INR差异无统计学意义(表2). ANA阳性占83.2%(84/101). AMA/AMA-M2阳性组中 γ -球蛋白、IgG和IgM明显升高, 与AMA/AMA-M2阴性组相比, 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$), 两组间C3、C4比较差异无统计学意义(表3).

2.3 影像学检查 本研究所有患者均行腹部超声或CT检查, 其中脾脏肿大15.84%(16/101)、腹水1.98%(2/101)、胆囊壁毛糙10.89%(11/101)、胆囊炎18.81%(19/101)、胆囊息肉13.86%(14/101)、胆囊结石27.7%(28/101), 两组比较差异无统计学意义(表4).

2.4 肝组织学检查 非化脓性胆管炎或肉芽肿性胆管炎是PBC病理学特征性表现. 本研究中所有患者均行肝活组织病理学检查, 所有患者均有不同程度的中小胆管炎损害. 其中观察到点状坏死82.18%(83/101)、碎屑状坏死40.59%(41/101)、桥接状坏死14.85%(15/101)、淋巴-浆细胞浸润86.14%(87/101)、胆汁淤积11.88%(12/101)、肉芽肿10.89%(11/101)、胆管炎47.52%(48/101)、胆管增生52.48%(53/101)、纤维化34.65%(35/101)、肝硬化6.93%(7/101), 上述各种病理组织学表现在AMA/AMA-M2阳性组和AMA/AMA-M2阴性组患者中的差异无统计学意义(表5).

3 讨论

PBC是一种病因不明的慢性肝内胆汁淤积性自

■相关报道

多数学者认为, 符合诊断标准的AMA或M2抗体阳性者, 可确诊为PBC. 但对AMA/AMA-M2阴性者, 目前仍未有统一意见.

■创新盘点

本文引用了近5年的大量英文文献,从病因、临床表现、实验室检查、治疗详细的阐述,提高了对PBC的认识。

表 1 两组PBC患者的临床表现比较 $n(\%)$

项目	AMA/AMA-M2阳性组	AMA/AMA-M2阴性组	χ^2 值	P值
n	51	50	—	—
乏力	17(33.3)	14(28)	0.509	0.476
黄疸	17(33.3)	13(26)	0.65	0.42
瘙痒	11(21.6)	9(18)	0.202	0.653
脾大	9(17.6)	7(14)	0.252	0.616
口干	7(13.7)	6(12)	0.067	0.796
眼干	5(9.8)	3(6)	0.501	0.479
肝区疼痛	4(7.8)	4(8)	0.001	0.977
脂黄瘤	6(11.76)	1(2)	2.542	0.111
纳差	2(3.9)	4(8)	0.199	0.656
腹胀	1(2)	1(2)	0	1

PBC: 原发性胆汁性肝硬化; AMA: 抗线粒体抗体。

表 2 两组生化指标的比较 [mean \pm SD, P50 (P25, P75)]

生化指标	AMA/AMA-M2阳性组	AMA/AMA-M2阴性组	检测值	P值
n	51	50	—	—
白细胞($\times 10^9$)	5.70 \pm 1.66	5.42 \pm 1.60	$t = 0.864$	0.39
血红蛋白(g/L)	124.39 \pm 15.34	126.60 \pm 18.85	$t = -0.65$	0.519
红细胞($\times 10^{12}$)	4.12(3.75, 4.36)	4.01(3.81, 4.41)	$Z = -0.149$	0.881
血小板($\times 10^9$)	189.30 \pm 75.54	196.79 \pm 72.45	$t = -0.51$	0.612
凝血酶原活动度(%)	124.41 \pm 40.21	127.69 \pm 56.52	$t = -0.34$	0.737
国际标准化比值	0.95 \pm 0.12	0.95 \pm 0.14	$t = -0$	0.998
总胆固醇(mmol/L)	5.4(4.19, 6.38)	5.12(4.05, 5.96)	$Z = -0.876$	0.381
甘油三酯(mmol/L)	1.73 \pm 1.04	1.68 \pm 0.77	$t = 0.257$	0.798
总胆红素(μ mol/L)	21(14.90, 31.6)	17.85(12.01, 26.6)	$Z = -0.608$	0.543
总蛋白(g/L)	73.05 \pm 72.45	72.45 \pm 8.08	$t = 0.374$	0.709
白蛋白(g/L)	37.67 \pm 5.49	38.87 \pm 6.22	$t = -1.03$	0.308
门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	73.3(47.7, 117.00)	61.16(29.10, 131.53)	$Z = -1.216$	0.224
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	75(39.00, 100.00)	73.86(40.22, 139.70)	$Z = -1.321$	0.186
门冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶	1.00 \pm 0.43	0.92 \pm 0.41	$t = 1.008$	0.316
碱性磷酸酶(U/L)	319.61 \pm 299.24	299.24 \pm 261.56	$t = 0.411$	0.682
γ -谷氨酰转肽酶(U/L)	249(142.0, 416.2)	258.5(71.48, 452)	$Z = -1.508$	0.132

AMA: 抗线粒体抗体。

表 3 两组PBC患者免疫指标的比较 [mean \pm SD, P50 (P25, P75)]

免疫指标	AMA/AMA-M2阳性组	AMA/AMA-M2阴性组	检测值	P值
n	51	50	—	—
γ -球蛋白(g/L)	20.41 \pm 7.20	20.11 \pm 5.07	$t = -2.098$	0.038
C4	0.36 \pm 0.18	0.31 \pm 0.17	$t = 0.673$	0.199
C3	1.26(1.03, 1.12)	1.12(0.94, 1.39)	$Z = -0.638$	0.523
IgM(g/L)	3.76(2.35, 6.20)	2.13(1.25, 4.62)	$Z = -2.52$	0.012
IgG(g/L)	15.9(13.4, 18.92)	14.30(11.7, 16.76)	$Z = -2.194$	0.028

PBC: 原发性胆汁性肝硬化; AMA: 抗线粒体抗体。

表 4 两组PBC患者影像学的比较 $n(\%)$

影像学资料	AMA/AMA-M2阳性组	AMA/AMA-M2阴性组	χ^2 值	P值
<i>n</i>	51	50	—	—
腹水	1(2)	1(2)	0	1
胆囊结石	13(25.5)	15(30)	0.256	0.613
胆囊壁毛糙	6(11.8)	5(10)	0.081	0.776
胆囊息肉	7(13.7)	7(14)	0.002	0.968
胆囊炎	8(15.7)	11(22)	0.659	0.417

PBC: 原发性胆汁性肝硬化; AMA: 抗线粒体抗体.

■应用要点

本文旨在提高对PBC的认识和诊疗水平, 尤其当AMA/AMA-M2阴性, 出现无其他病因可解释的乏力、黄疸、瘙痒、脾大、口干、眼干、肝区疼痛、脂黄瘤、纳差、腹胀, 碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰转肽酶升高, 应考虑此病.

表 5 两组PBC患者病理特征的比较 $n(\%)$

病理情况	AMA/AMA-M2阳性组	AMA/AMA-M2阴性组	χ^2 值	P值
<i>n</i>	51	50	—	—
点状坏死	45(88.2)	38(76)	2.591	0.108
碎屑状坏死	21(41.2)	20(40)	0.014	0.904
桥接状坏死	7(13.7)	8(16)	0.103	0.748
淋巴-浆细胞浸润	43(84.3)	44(88)	0.287	0.592
胆汁淤积	5(9.8)	7(14)	0.425	0.515
肉芽肿	5(9.8)	6(12)	0.125	0.723
胆管炎	23(45.1)	25(50)	0.243	0.622
胆管增生	24(47.1)	29(58)	1.212	0.270
纤维化	20(39.2)	15(30)	0.947	0.331
肝硬化	4(7.8)	3(6)	0	1

PBC: 原发性胆汁性肝硬化; AMA: 抗线粒体抗体.

身免疫性肝病, 可同时或先后合并其他自身免疫性疾病. 过去认为PBC多发于白种人^[8], 随着新的检测手段不断发展及对PBC认识水平的不断提高, 不同种族中PBC的确诊率逐年升高, 据最新流行病学统计提示, PBC每年的发病率为38.3/100000^[9]. PBC确诊后的平均生存期为15年^[10]. 本病有一定的遗传易感性^[11]. 女性较男性多见, 患PBC的男性与女性在血清生化学及组织学方面无明显差别, 但男性PBC患者发生致命性并发症的风险较女性高, 如上消化道出血和肝癌^[12], 表明男性患者与女性患者相比, 病程进展快、预后差. 本研究显示PBC患者男女比例为1.1:9, 好发于40岁以上的女性患者, 也可见于年轻患者, 本文确诊为PBC的最小年龄为23岁, 临床上易被忽略, 值得特别注意. 根据新近报道^[13], 老年患者与年轻患者相比, PBC病程进展快、预后差, 因此发病年龄可能有助于判断PBC的预后. 本研究显示其他民族占14例, PBC是否存在种族易感性有待进一步观察.

AMA的靶抗原位于线粒体膜上, M2的靶抗

原属于线粒体膜上2-氧酸脱氢酶复合体(2-oxo acid dehydrogenase complex, 2-OADC)的成分, 主要反应在丙酮酸脱氢酶复合体E2亚单位上^[14]. 根据靶抗原在线粒体内外膜上的位置、对胰蛋白酶的敏感性、蛋白电泳特点, 将AMA分为9个亚型(M1-M9), 其中M2、M4、M8及M9均与PBC有关^[15,16], 尤其M2对诊断PBC的特异性最强, 其敏感性与特异性均超过95%, 是诊断PBC的重要依据. 血清M4、M9抗体对PBC的病情判断有一定的临床价值^[17]. 临床实践中仍有部分患者AMA、AMA-M2均为阴性, 导致误诊率、漏诊率较高, 并且延误治疗, 使疾病发展为终末期. 如何提高AMA/AMA-M2阴性PBC的确诊率显得非常重要. 本研究显示AMA/AMA-M2阴性PBC患者在临床表现、生物化学、影像学及病理学特征等方面与AMA/AMA-M2阳性患者基本相似, 无统计学差异, 这与Tanaka等^[18]、王绮夏等^[19]报道一致. 本文AMA/AMA-M2阴性PBC的诊断最终依靠肝组织活检. 有文献报道血清AMA/AMA-M2的效价及阳性与否与疾病的严

■同行评价

本文结构合理, 科学性较强, 有一定临床指导价值。

重程度不平行^[20], 因此当高度怀疑为PBC患者且AMA、AMA-M2均为阴性时建议及时行肝组织病理学检查以确诊。

在多种自身免疫性疾病中可检测出ANA。大约90%-95%的PBC患者血清AMA滴度升高, 本研究中ANA阳性率为82.2%, AMA无疑是PBC重要的血清学特征。ANA阳性是否可作为PBC的初筛检查, 还有待进一步探讨。对于AMA/AMA-M2阴性PBC患者, ANA阳性也常常被误诊为自身免疫性肝炎, 需要临床加以注意。ANA的亚型包括: 颗粒型、均质型及着丝点型等。相关研究报道^[21,22]当AMA/AMA-M2阴性时ANA亚型中抗gp120、抗sp100阳性对PBC的诊断有一定的辅助意义。胡朝军等^[23]对AMA阳性与AMA阴性PBC患者自身免疫性肝病相关自身抗体的阳性状况进行分析, 发现AMA阳性与AMA阴性PBC患者抗gp210抗体、抗sp100抗体、抗LC1抗体、抗SLA抗体和抗LKM-I抗体阳性率差异均无统计学意义, AMA、抗gp210抗体和抗sp100抗体都是PBC患者血清特征性自身抗体。国外学者认为抗gp210抗体和抗sp100抗体在AMA阴性PBC患者的阳性率高于AMA阳性PBC患者, 在AMA阴性PBC的诊断中具有重要意义。但国内研究显示抗gp210抗体和抗sp100抗体在AMA阳性PBC患者与AMA阴性PBC患者中阳性率差异无统计学意义。鉴于肝病相关自身抗体在PBC患者中的阳性率报道不一, 认为肝组织病理学检查依然是诊断AMA/AMA-M2阴性PBC的金标准。

本研究发现AMA/AMA-M2阳性PBC患者血清γ-球蛋白、IgG和IgM较AMA/AMA-M2阴性PBC患者明显升高, 具有统计学差异。这与胡朝军等^[23]的观察相似, AMA阳性PBC患者IgM水平显著高于AMA阴性患者。提示AMA/AMA-M2阳性PBC患者与AMA/AMA-M2阴性PBC患者的机体免疫状态存在差异。PBC患者特征性自身抗体AMA的产生与体内T、B淋巴细胞针对AMA的抗原识别位点有关。T细胞免疫异常, 转化生长因子、白介素-6等细胞因子过渡生成诱发的免疫失衡与PBC的发生及发展有关。

PBC的组织病理学特征为小叶间非化脓性胆管炎或肉芽肿性胆管炎。其病程进展的重要环节之一是胆管上皮细胞的凋亡^[11], 依据其表现可分为4期: I期为胆管炎期, II期为胆管增生期, III期为纤维化期, IV期为肝硬化期。其中I、II期较III、IV期多见。部分PBC患者肝脏

组织病理学中可同时存在各期的病理改变。本研究发现AMA/AMA-M2阳性PBC患者与AMA/AMA-M2阴性PBC患者肝组织病理改变无明显差异, 所有患者均有不同程度的中小胆管炎性损害。

影像学检查提示慢性胆囊炎、胆囊息肉、胆囊结石是PBC患者最常见的并发症, 认为与该病的发病机制有一定关系。

AMA/AMA-M2阴性PBC的早期诊断对于早期治疗, 改善预后, 防止各种并发症具有重要意义。熊去氧胆酸(ursodesoxycholic acid, UDCA)仍然是目前公认的治疗PBC最有效的药物, 早期、标准剂量服用UDCA可延缓病情的进展^[24], 改善患者的生化指标、降低门脉高压和预防食管胃底静脉曲张^[25]。应答良好的PBC患者10年非移植生存率高达90%^[26], 而不应答的PBC患者10年病死率同样高达90%以上^[27]。研究发现老年和女性患者比年轻和男性患者应答好^[28]。晚期PBC患者唯一有效的治疗手段是肝移植, 移植后临床症状可消失, 但AMA仍可检测出^[29], 干细胞移植可能延缓病情的发展^[30]。

4 参考文献

- 1 李新民, 马雄, 邱德凯. 原发性胆汁性肝硬化临床特征分析. 现代消化及介入诊疗 2006; 11: 196-198, 244
- 2 Arbour L, Rupps R, Field L, Ross P, Erikson A, Henderson H, Hill W, Yoshida E. Characteristics of primary biliary cirrhosis in British Columbia's First Nations population. *Can J Gastroenterol* 2005; 19: 305-310 [PMID: 15915245]
- 3 Selmi C, Invernizzi P, Zuin M, Podda M, Gershwin ME. Genetics and geoepidemiology of primary biliary cirrhosis: following the footprints to disease etiology. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 265-280 [PMID: 16143943]
- 4 Fan LY, Zhong RQ, Tu XQ, Pfeiffer T, Feltens R, Zhu Y, Zhou L. [Genetic association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune liver diseases in a Chinese population]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2004; 12: 160-162 [PMID: 15059302]
- 5 Uibo R, Kisand K, Yang CY, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis: a multi-faced interactive disease involving genetics, environment and the immune response. *APMIS* 2012; 120: 857-871 [PMID: 23009110]
- 6 Talwalkar JA, Lindor KD. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2003; 362: 53-61 [PMID: 12853201]
- 7 Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ, American Association for Study of Liver Diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291-308 [PMID: 19554543 DOI: 10.1002/hep.22906]
- 8 Smyk D, Cholongitas E, Kriesel S, Rigopoulou EI, Bogdanos DP. Primary biliary cirrhosis: family stories. *Autoimmune Dis* 2011; 2011: 189585 [PMID: 21687641 DOI: 10.4061/2011/189585]

- 9 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2761-2770
- 10 Baldursdottir TR, Bergmann OM, Jonasson JG, Ludviksson BR, Axelsson TA, Björnsson ES. The epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis: a nationwide population-based study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 824-830 [PMID: 22562114 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328353753d]
- 11 Selmi C, Affronti A, Ferrari L, Invernizzi P. Immune-mediated bile duct injury: The case of primary biliary cirrhosis. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2010; 1: 118-128 [PMID: 21607152 DOI: 10.4291/wjgp.v1.i4.118]
- 12 Smyk DS, Rigopoulou EI, Pares A, Billinis C, Burroughs AK, Muratori L, Invernizzi P, Bogdanos DP. Sex differences associated with primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 610504 [PMID: 22693524 DOI: 10.1155/2012/610504]
- 13 Czaja AJ. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2144-2161 [PMID: 20464491]
- 14 刘红虹, 福军亮, 徐军. 123例原发性胆汁性肝硬化临床表现与自身抗体谱. 北京大学学报 2013; 45: 233-237
- 15 仲人前, 杨再兴, 梁艳. 自身免疫性肝病的实验诊断进展. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 324-326
- 16 Muratori L, Granito A, Muratori P, Pappas G, Bianchi FB. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 261-276; vii [PMID: 18456179 DOI: 10.1016/j.cld]
- 17 张立伟, 林连捷, 郑长青, 林艳, 张静洁, 周慧慧. 原发性胆汁性肝硬化114例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1884-1888
- 18 Tanaka A, Miyakawa H, Luketic VA, Kaplan M, Storch WB, Gershwin ME. The diagnostic value of anti-mitochondrial antibodies, especially in primary biliary cirrhosis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002; 48: 295-299 [PMID: 12030434]
- 19 王绮夏, 沈霞, 陈晓宇, 邱德凯, 马雄. 抗线粒体抗体阴性原发性胆汁性肝硬化患者的临床及病理学特点. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 340-344
- 20 Van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD, Therneau TM, Gershwin ME, Leung PS, Dickson ER, Homburger HA. Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: relationship of levels of autoantibodies to disease progression. *Hepatology* 1997; 25: 6-11 [PMID: 8985257]
- 21 李祥金, 杨晋辉. 原发性胆汁性肝硬化AMA-M2阴性患者的临床及病理特点. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1676-1679
- 22 Sfakianaki O, Koulentaki M, Tzardi M, Tsangaridou E, Theodoropoulos PA, Castanas E, Kouroumalis EA. Peri-nuclear antibodies correlate with survival in Greek primary biliary cirrhosis patients. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4938-4943 [PMID: 20954280 DOI: 10.3748/wjg.v16.i39.4938]
- 23 胡朝军, 杨国香, 李唏, 李永哲, 李丽君, 张蜀澜, 董晓娟, 张奉春. 原发性胆汁性肝硬化患者血清自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测及临床意义. 中华检验医学杂志 2010; 33: 115-120
- 24 Corpechot C, Chazouillères O, Poupon R. Early primary biliary cirrhosis: biochemical response to treatment and prediction of long-term outcome. *J Hepatol* 2011; 55: 1361-1367 [PMID: 21703194 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.031]
- 25 Grattagliano I, Palmieri VO, Portincasa P, Minerva F, Palasciano G. Long-term ursodeoxycholate improves circulating redox changes in primary biliary cirrhotic patients. *Clin Biochem* 2011; 44: 1400-1404 [PMID: 21963381 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.09.008]
- 26 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004]
- 27 Kuiper EM, Hansen BE, de Vries RA, den Ouden-Muller JW, van Ditzhuijsen TJ, Haagsma EB, Houben MH, Witteman BJ, van Erpecum KJ, van Buuren HR. Improved prognosis of patients with primary biliary cirrhosis that have a biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 2009; 136: 1281-1287 [PMID: 19208346]
- 28 Carbone M, Mells GF, Pells G, Dawwas MF, Newton JL, Heneghan MA, Neuberger JM, Day DB, Ducker SJ, Sandford RN, Alexander GJ, Jones DE. Sex and age are determinants of the clinical phenotype of primary biliary cirrhosis and response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 2013; 144: 560-569.e7; quiz e13-14 [PMID: 23246637 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.12.005]
- 29 Luettig B, Boeker KH, Schoessler W, Will H, Loges S, Schmidt E, Worman HJ, Gershwin ME, Manns MP. The antinuclear autoantibodies Sp100 and gp210 persist after orthotopic liver transplantation in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1998; 28: 824-828 [PMID: 9625318]
- 30 Wang D, Zhang H, Liang J, Gu Z, Ma X, Huang J, Lin J, Hou Y, Lu L, Sun L. Effect of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation in a polyI: C-induced primary biliary cirrhosis mouse model. *Clin Exp Med* 2011; 11: 25-32 [PMID: 20661620 DOI: 10.1007/s10238-010-0105-6]

编辑 田滢 电编 闫晋利



大肠高分化腺癌与大肠腺瘤的质谱成像

何滔, 郭赞, 何轩, 胡晓, 于婷婷, 郑淑芳

■背景资料

生物组织质谱成像是基于最新的生物质谱技术。他能够在组织水平、细胞及亚细胞水平对特定分子的分布情况进行扫描分析进而获得该分子的分布图。不需要特殊标记和复杂的样本处理, 不需将样本中的多肽、蛋白质等提取出来, 可以直接得到蛋白质、多肽的原位分布信息, 目前已被广泛用于蛋白质组、脂组 and 药物代谢等研究领域。

何滔, 何轩, 郑淑芳, 中国人民武装警察部队后勤学院附属医院病理科 天津市 300162

郭赞, 中国人民武装警察部队后勤学院附属医院内分泌血液科 天津市 300162

胡晓, 天津市职业与环境危害生物标志物重点实验室 天津市 300162

于婷婷, 布鲁克·道尔顿公司 北京市 100081

何滔, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

天津市应用基础及前沿技术计划面上基金资助项目, No. 11JCYBJC13000

武警后勤学院面上基金资助项目, No. WYMZ201009

武警后勤学院青年基金资助项目, No. WYQ201101

作者贡献分布: 此课题由何滔与郑淑芳设计; 研究过程由何滔、何轩及郭赞完成; 研究所用试剂、设备及分析工具由胡晓与于婷婷提供; 数据分析由何滔与于婷婷完成; 本论文写作由何滔、郑淑芳及郭赞完成。

通讯作者: 郑淑芳, 教授, 主任医师, 300162, 天津市东丽区成林路220号, 中国人民武装警察部队后勤学院附属医院病理科。

zhengshf@126.com

电话: 022-60578721

收稿日期: 2013-08-28 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Mass spectrometry imaging for identification of differentially expressed proteins between colorectal adenocarcinoma and colon adenoma

Tao He, Yun Guo, Xuan He, Xiao Hu, Ting-Ting Yu, Shu-Fang Zheng

Tao He, Xuan He, Shu-Fang Zheng, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

Yun Guo, Department of Endocrinology and Hematology, the Affiliated Hospital of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

Xiao Hu, Tianjin Key Laboratory for Biomarkers of Occupational and Environment Hazard, Tianjin 300162, China

Ting-Ting Yu, Bruker Daltonics Company, Beijing 100081, China

Supported by: the Tianjin City Application Foundation and Cutting-edge Technology Research Program, No. 11JCYBJC13000; the General Research Program of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, No. WYMZ201009; and the Youth Research Program of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, No. WYQ201101

Correspondence to: Shu-Fang Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, 220 Chenglin Road, Dongli District, Tianjin 300162, China. zhengshf@126.com

Received: 2013-08-28 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

■同行评议者

白雪巍, 副主任
医师, 哈尔滨医
科大学

Abstract

AIM: To identify colorectal adenocarcinoma associated protein molecular markers by comparing well-differentiated colorectal adenocarcinoma with adenoma using mass spectrometry imaging technology.

METHODS: Frozen tissue sections of human colorectal adenocarcinoma and colon adenoma was scanned by mass spectrometry imaging for polypeptide distribution information in situ. Mass spectrum analysis conditions were linear positive ion mode, laser energy range of 30%-50%, irradiated 100 times, and spot range of 200 μ m. Genetic algorithm was used to calculate peak area. Significantly differential peaks between the two groups were identified by using the *t*-test.

RESULTS: Compared with colorectal adenoma, 16 protein molecules were significantly differentially expressed in well-differentiated colorectal adenocarcinoma, including 7 up-regulated and 9 down-regulated.

CONCLUSION: Mass spectrometry imaging allows to identify significantly differentially expressed proteins between colorectal adenocarcinoma and colon adenoma, and these identified molecules may have important roles in the development of colorectal adenocarcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mass spectrometry imaging; Colorectal adenocarcinoma; Adenoma; Proteomics

He T, Guo Y, He X, Hu X, Yu TT, Zheng SF. Mass spectrometry imaging for identification of differentially expressed proteins between colorectal adenocarcinoma and colon adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3806-3812 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3806>

摘要

目的: 采用质谱成像技术比较大肠高分化腺

癌组织与腺瘤组织的蛋白质组表达差异, 寻找大肠腺癌相关的蛋白质分子标志物。

方法: 应用质谱成像技术对人体大肠腺癌组织和大肠腺瘤组织冰冻切片进行质谱扫描, 得到蛋白质、多肽的原位分布信息, 初步建立了以质谱成像技术寻找大肠高分化腺癌与腺瘤中差异蛋白的方法。质谱成像切片制备: 常规10 μm 冰冻切片, 用含0.1%三氟乙酸的50%乙腈水溶液配制15 g/L的 α -腈基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic-acid, CHCA)基质均匀喷洒。质谱分析条件: 线性正离子模式, 激光能量范围30%-50%, 照射100次, 采样点距200 μm 。获取到的质谱图采用遗传算法计算峰面积。用峰面积来确定两组之间的差异分子。采用 t 检验比较两组间峰差异的显著性。

结果: 与大肠腺瘤比较, 大肠高分化腺癌有显著差异蛋白分子共16个, 其中上调7个, 下调9个。

结论: 质谱成像技术用于大肠高分化腺癌与大肠腺瘤蛋白质组对照研究能够直观反映出大肠高分化腺癌与大肠腺瘤间的蛋白质分子差异, 这些差异分子可能与大肠腺癌的发生、发展相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 质谱成像; 大肠腺癌; 腺瘤; 蛋白质组学

核心提示: 本文采用质谱成像技术对人组织切片进行研究, 探索样品制备方法、质谱检测技术条件, 初步建立了以质谱成像技术比较研究大肠高分化腺癌与大肠腺瘤差异蛋白的方法。在实验中, 与大肠腺瘤比较, 大肠高分化腺癌有显著差异蛋白多肽分子共16个, 其中上调7个, 下调9个。从大肠腺瘤演变、发展到高分化腺癌这一阶段蛋白质组发生了改变, 出现了差异蛋白标志物。而这些标志物, 可能与大肠腺癌的发生、发展相关, 可能具有重要的生物学意义。

何滔, 郭赞, 何轩, 胡晓, 于婷婷, 郑淑芳. 大肠高分化腺癌与大肠腺瘤的质谱成像. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3806-3812
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3806>

0 引言

大肠腺癌是胃肠道常见的恶性肿瘤, 据美国统计, 大肠癌占有恶性肿瘤发病率和死亡率第2位^[1]。大肠腺癌的发生、发展是多基因参与、多阶段、多步骤的过程, 涉及分子遗传学

和组织形态学的改变。与大肠腺癌相关的癌前病变包括腺瘤、非腺瘤性息肉病和炎症性肠病, 目前发现95%的早期大肠癌与腺瘤有关。

生物组织质谱成像是基于最新的生物质谱和蛋白质组学、代谢组学技术发展起来的分子成像技术。他能够在组织水平、细胞及亚细胞水平对特定分子的分布情况进行扫描分析进而获得该分子的分布图^[2-5]不需要特殊标记和复杂的样本处理, 不需将样本中的多肽、蛋白质等提取出来, 可以直接得到蛋白质、多肽的原位分布信息, 目前已被广泛用于蛋白质组^[6-8]、脂组^[9,10]和药物代谢^[11,12]等研究领域。

本研究采用质谱成像技术比较大肠高分化腺癌与大肠腺瘤的蛋白质组表达差异, 寻找与大肠腺癌相关的蛋白质, 为进一步研究、筛选大肠腺癌相对特异、敏感的蛋白质和肿瘤蛋白质组学研究提供新的方法和思路。

1 材料和方法

1.1 材料 基质 α -腈基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic-acid, CHCA)纯度98.5%、乙腈(acetonitrile, ACN)、三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)、无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)均为色谱纯, 以上均购自美国Sigma公司。HM525冰冻组织切片机: 德国美康公司; AutoFlex MALDI-TOF-MS: 德国布鲁克公司; 基质喷雾器: 德国布鲁克公司; -80 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱: 日本三洋公司。质谱成像软件Fleximaging、Flexcontrol质谱操控软件和差异分析软件ClinProtools2.0: 德国布鲁克公司。

1.2 方法

1.2.1 常规冰冻切片、HE染色: (1)手术送检大肠癌与腺瘤标本, 不经固定, 用消毒手术刀片切取组织, 厚度为3 mm, 消毒干纱布拭去血水, 将组织轻轻包入铝箔, 用液氮预冷后转至-80 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱储存; (2)预冷组织支承器, 在其表面滴少许去离子水, 将-80 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱内储存的大肠高分化腺癌与大肠腺瘤标本黏附于组织支承器上, 不使用包埋剂, 切片厚度5 μm , 将制备好的切片黏附至普通的载玻片上; (3)染色方法: 切片固定1 min, 水洗5 min, 染苏木素3 min, 盐酸酒精分化10 s, 氨水中返蓝20 s, 伊红染色10-20 s, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。制备完成的切片由2名高年资的病理医生审核, 确诊为大肠高分化腺癌与大肠腺瘤的标本入组进行下面实验, 每组5例。诊断标准^[13]: (1)高分化腺癌: 肿瘤呈浸润性生长, 突破黏膜肌层侵及黏膜下层

■ 研发前沿

目前采用蛋白质组学技术研究和探索大肠癌诊断标志物、进行早期筛查是研究的热点。质谱成像技术能够提供蛋白多肽分子在组织空间中分布的精确信息, 准确定位, 并对蛋白含量进行相对定量。但目前该技术出峰率较低、蛋白后续鉴定困难、价格昂贵都限制了其应用。

■ 创新盘点

该实验采用质谱成像技术对人体组织切片进行研究,探索样品制备方法、质谱检测等技术条件,初步建立了以质谱成像技术比较研究大肠高分化腺癌与大肠腺瘤差异蛋白的方法。

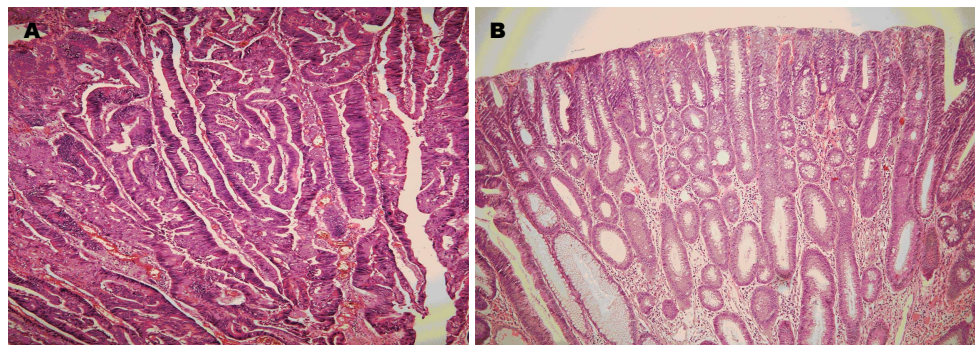


图1 组织冰冻切片(HE染色×100). A: 大肠高分化腺癌; B: 大肠腺瘤.

和肌层,腺样结构超过肿瘤的95%;(2)腺瘤:呈息肉状生长,组织富于细胞、核大且深染、不同程度的核复层并缺乏极向,无组织浸润.

1.2.2 质谱成像组织切片样品制备:上述确诊大肠高分化腺癌组织与大肠腺瘤组织分别于-20℃在冰冻切片机上制作冰冻切片,组织不使用包埋剂,切片厚度10 μm.将组织切片直接从切片刀黏附到专用导电载玻片的导电面上,然后将载玻片放入真空干燥器内室温干燥5 min.取出已干燥切片,将其缓慢放入700 mL/L乙醇中泡洗1-2次,每次15-30 s,再缓慢放入950 mL/L乙醇泡洗15 s^[14,15].

1.2.3 质谱成像切片基质覆盖:用含0.1%TFA的50%ACN水溶液配制成15 g/L的CHCA基质溶液.取上述制备好的载玻片,放置于基质喷雾器中,调整好喷雾距离,将基质溶液均匀喷洒覆盖于组织表面.结束后,将载玻片置于室温下自然干燥.干燥后的载玻片用导电胶带贴在MALDI不锈钢靶板上,送入质谱仪分析.

1.2.4 质谱扫描和数据分析:使用Blaker公司Flexcontrol质谱操控软件,设置质谱扫描条件:线性正离子模式,激光能量范围30%-50%,每个采样点照射100次,采样点距200 μm,质量扫描范围m/z 1000-20000.

统计学处理 Clinprotools2.0分析软件中,采用遗传算法,分别计算出腺癌组和腺瘤组的平均质谱峰值,自动计算峰面积.用峰面积来确定两组之间的差异分子.采用t检验确定两组之间P<0.01的质谱峰为显著差异峰.

2 结果

2.1 常规冰冻切片、HE染色结果 制备完成的切片经由2名高年资的病理医生审核,选取确诊为大肠高分化腺癌和大肠腺瘤的标本各5例(图1),进行质谱成像实验.

2.2 质谱扫描和数据分析结果 质谱扫描得到大肠高分化腺癌和大肠腺瘤质谱峰图(图2),可见,大肠高分化腺癌和大肠腺瘤质谱峰图簇峰基本集中于在m/z 1500-11000之间.差异分析结果为:与大肠腺瘤比较,大肠高分化腺癌有显著差异蛋白多肽共16个,其中上调7个,下调9个(表1,图3).部分多肽分子显著高表达于高分化腺癌组织中(图4).

3 讨论

质谱成像技术是一种全新的分子成像技术,他可在组织切片中同时找到多种蛋白多肽分子,与双向凝胶电泳、毛细血管电泳、蛋白芯片等蛋白质组学技术相比,其最大的优势是能够提供蛋白多肽分子在组织中空间分布的精确信息,准确定位,并对蛋白含量进行相对定量.

医学影像学技术已经成为临床诊断的必备手段,但是绝大部分不能在分子水平上提供组织成分的分布信息,而质谱成像技术能在分子水平上发现病变组织的标志物.质谱成像技术在疾病机制的研究中已经有着广泛的应用,目前研究涉及的疾病包括帕金森病^[16]、阿尔茨海默氏症^[17]、法布里病^[18]、乳腺癌^[19]、黑色素瘤^[20]、卵巢癌^[21]、结肠癌^[22]等.

目前,在临床病理诊断中,对大肠腺瘤与腺癌的鉴别,基本都依赖于病理医生的经验,当送检材料不足时,往往会造成诊断的困难,导致临床处置进退两难.目前为止,大肠肿瘤仍缺乏肿瘤特异性标志物^[23],临床常用的大肠肿瘤诊断标志物(如CEA)特异性低、敏感性差,不能用于早期诊断.目前发现95%的早期大肠癌与腺瘤有关.很多学者认为由正常上皮发展为大肠癌一般需经过上皮过度增生、腺瘤期(早、中、晚期)、癌变及癌浸润和转移等阶段^[24],这是一个多阶段、多基因改变的、复杂的积累过程,而这些改变最终会体现在蛋白表达的差异,此进程需10-15年,

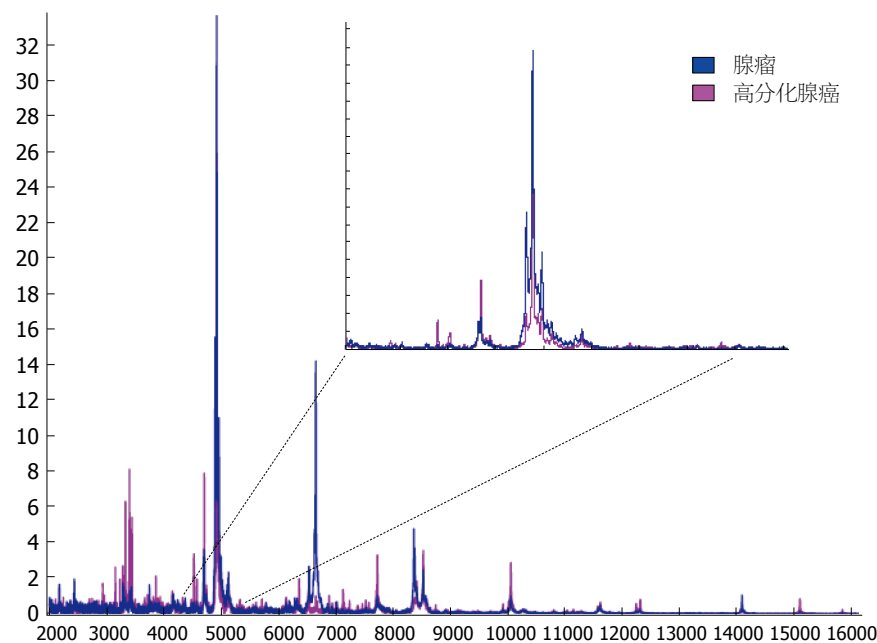


图 2 大肠高分化腺癌组织与腺瘤组织的质谱图.

■应用要点

在临床病理诊断中, 对大肠腺瘤与腺癌的鉴别, 基本都依赖于病理医生的经验, 当送检材料不足时, 往往会造成诊断的困难, 导致临床处置进退两难. 以质谱成像技术比较研究大肠高分化腺癌与大肠腺瘤差异蛋白, 为临床病理诊断提供了新的思路. 在常规光镜难以明确诊断及判断预后的疾病, 如甲状腺滤泡癌、消化系统神经内分泌肿瘤、胰腺实性-假乳头状肿瘤、子宫增生活跃的平滑肌瘤、微小浸润和转移癌等将有良好的应用前景.

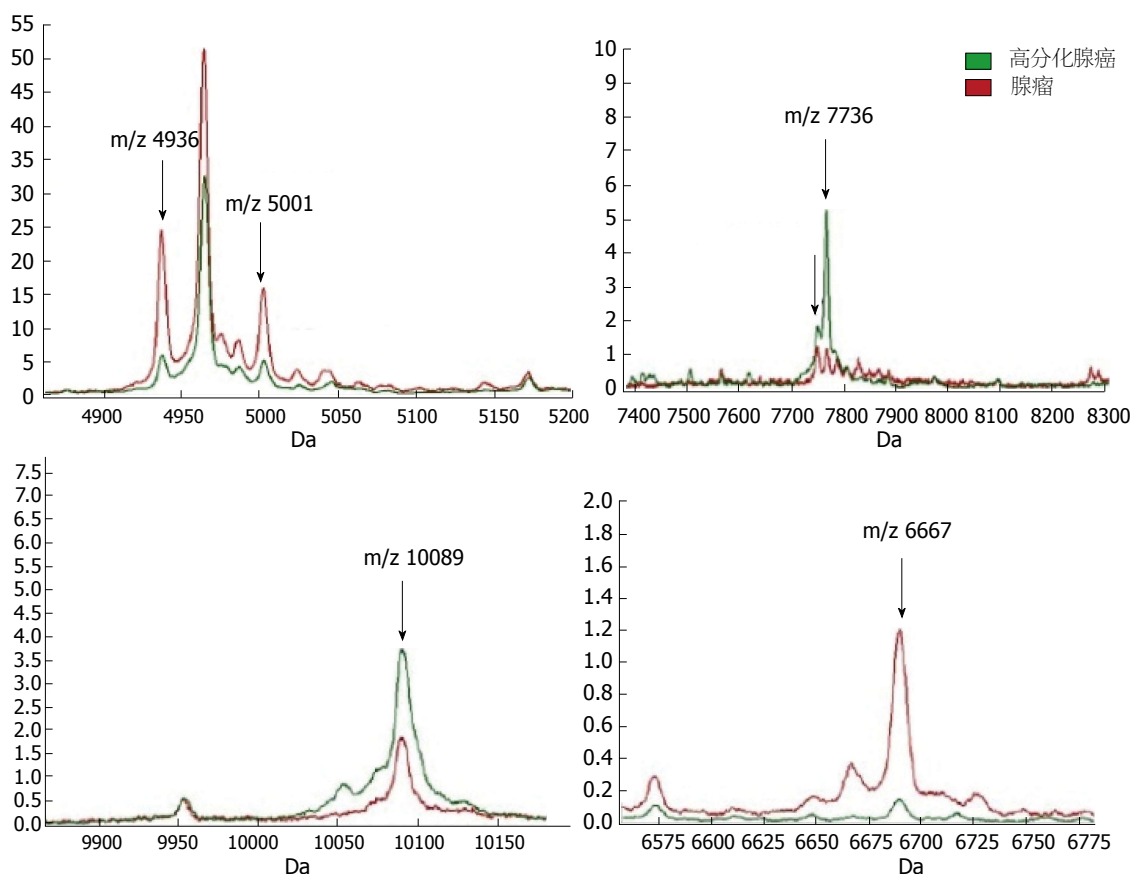


图 3 统计分析具有显著差异的蛋白多肽举例.

而从腺瘤发展到癌又是其中最关键的一步. de Wit等^[25]采取凝胶电泳、纳米液相色谱和串联质谱技术对结肠癌与腺瘤细胞膜表面蛋白研究中发现44种差异蛋白. Luo等^[26]采用2-D双向凝胶电

泳技术在对腺瘤与结肠癌和正常黏膜的蛋白质组比较研究中发现24种差异蛋白. Choi等^[27]采用2-D双向凝胶电泳技术在对结肠癌和结肠腺瘤患者血清蛋白质组比较研究中发现结肠癌患者血

■同行评价
本文具有一定指
导意义。

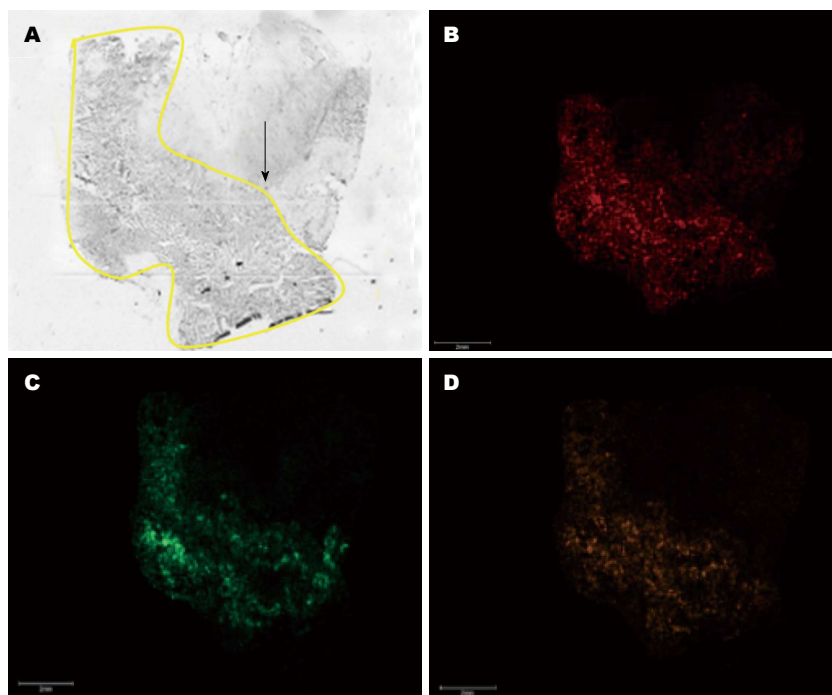


图 4 高分化腺癌组织中显著表达的多肽分子举例 ($\times 40$)。A: 高分化腺癌组织切片, 箭头所示为大肠腺癌组织; B、C、D: 分别显示 m/z 10089、6690、6573 多肽分子显著高表达于高分化腺癌组织区域中。

表 1 差异分子统计表

质荷比(m/z)	腺癌组峰面积	高分化腺癌组峰面积
6667 ²	92.13	27.22
4936 ²	209.79	80.67
8401 ²	98.65	39.46
6726 ²	57.38	25.73
8411 ²	66.21	30.97
6650 ²	81.95	41.62
5001 ²	156.58	83.98
4985 ²	94.8	56.55
6749 ²	32.36	19.43
15128 ¹	4.1	23.83
15869 ¹	1.69	7.47
6573 ¹	40.96	223.27
12275 ¹	8.8	22.31
12343 ¹	11.68	29.07
10089 ¹	35.52	84.48
7763 ¹	26.72	62.87

¹上调分子; ²下调分子。

清有11种蛋白表达增高, 13种表达下降。

本工作采用质谱成像技术对人组织切片进行研究, 探索样品制备方法、质谱检测技术条件, 初步建立了以质谱成像技术比较研究大肠高分化腺癌与大肠腺瘤差异蛋白的方法。在实验中, 与大肠腺瘤比较, 大肠高分化腺癌有显著差异蛋白多肽分子共16个, 其中上调7个, 下调9个。从一个方面证实从大肠腺瘤演变、发展到高分化腺癌这一阶段蛋白质组发生了改变, 出

现了差异蛋白标志物。而这些标志物, 可能与大肠腺癌的发生、发展相关, 可能具有重要的生物学意义。但目前对组织中蛋白质和多肽直接鉴定, 还是研究的难点问题^[28-31], 原位酶切技术的应用可以提高鉴定的成功率。

目前为止, 质谱成像技术还处于起步阶段, 样品制备、质谱条件、数据处理等方面还需要进一步探索、改进和完善。随着该技术的日趋成熟, 鉴定组织中特异性分布的蛋白质和多肽, 以及对其功能进行验证, 也将是质谱成像技术的一个重要发展方向。

4 参考文献

- 1 Rozen P. Report of the World Organization for Digestive Endoscopy Colorectal Cancer Screening Committee Meeting, Chicago, 2005. *Eur J Cancer Prev* 2006; 15: 95-102 [PMID: 16523005 DOI: 10.1097/01.cej.0000198901.70797.91]
- 2 Setou M, Shrivastava K, Sroyraya M, Yang H, Sugiyama Y, Moribe J, Kondo A, Tsutsumi K, Kimura Y, Kurabe N, Hayasaka T, Goto-Inoue N, Zaima N, Ikegami K, Sobhon P, Konishi Y. Developments and applications of mass microscopy. *Med Mol Morphol* 2010; 43: 1-5 [PMID: 20339999 DOI: 10.1007/s00795-009-0489-0]
- 3 Ruotolo BT, Gillig KJ, Woods AS, Egan TF, Ugarov MV, Schultz JA, Russell DH. Analysis of phosphorylated peptides by ion mobility-mass spectrometry. *Anal Chem* 2004; 76: 6727-6733 [PMID: 15538797 DOI: 10.1021/ac0498009]
- 4 Luxembourg SL, Mize TH, McDonnell LA, Heeren RM. High-spatial resolution mass spectrometric imaging of peptide and protein distributions on a surface. *Anal Chem* 2004; 76: 5339-5344 [PMID: 15362890 DOI: 10.1021/ac049692q]

- 5 Rubakhin SS, Jurchen JC, Monroe EB, Sweedler JV. Imaging mass spectrometry: fundamentals and applications to drug discovery. *Drug Discov Today* 2005; 10: 823-837 [PMID: 15970265 DOI: 10.1016/S1359-6446(05)03458-6]
- 6 Chughtai K, Heeren RM. Mass spectrometric imaging for biomedical tissue analysis. *Chem Rev* 2010; 110: 3237-3277 [PMID: 20423155 DOI: 10.1021/cr100012c]
- 7 Shimma S, Sugiura Y, Hayasaka T, Zaima N, Matsumoto M, Setou M. Mass imaging and identification of biomolecules with MALDI-QIT-TOF-based system. *Anal Chem* 2008; 80: 878-885 [PMID: 18166020 DOI: 10.1021/ac071301v]
- 8 Sugiura Y, Konishi Y, Zaima N, Kajihara S, Nakanishi H, Taguchi R, Setou M. Visualization of the cell-selective distribution of PUFA-containing phosphatidylcholines in mouse brain by imaging mass spectrometry. *J Lipid Res* 2009; 50: 1776-1788 [PMID: 19417221 DOI: 10.1194/jlr.M900047-JLR200]
- 9 Moritake S, Taira S, Sugiura Y, Setou M, Ichiyanagi Y. Magnetic nanoparticle-based mass spectrometry for the detection of biomolecules in cultured cells. *J Nanosci Nanotechnol* 2009; 9: 169-176 [PMID: 19441292]
- 10 Ageta H, Asai S, Sugiura Y, Goto-Inoue N, Zaima N, Setou M. Layer-specific sulfatide localization in rat hippocampus middle molecular layer is revealed by nanoparticle-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 16-23 [PMID: 19294488 DOI: 10.1007/s00795-008-0427-6]
- 11 Zaima N, Matsuyama Y, Setou M. Principal component analysis of direct matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric data related to metabolites of fatty liver. *J Oleo Sci* 2009; 58: 267-273 [PMID: 19367083 DOI: JST.JSTAGE/jos/58.267]
- 12 Végvári A, Fehniger TE, Gustavsson L, Nilsson A, Andrén PE, Kenne K, Nilsson J, Laurell T, Markovarga G. Essential tactics of tissue preparation and matrix nano-spotting for successful compound imaging mass spectrometry. *J Proteomics* 2010; 73: 1270-1278 [PMID: 20193786 DOI: 10.1016/j.jprot.2010.02.021]
- 13 Hamilton SR, Aalton LA. Pathology and genetics tumours of digestive system. Lyon: IARC Press, 2000: 105-143
- 14 刘念, 刘峰, 许彬, 高亚兵, 李向红, 魏开华, 张学敏, 杨松成. 生物组织质谱成像方法的建立及其在微波辐射后大鼠海马组织的蛋白组分析中的应用. *分析化学* 2008; 36: 421-425
- 15 Chaurand P, Cornett DS, Caprioli RM. Molecular imaging of thin mammalian tissue sections by mass spectrometry. *Curr Opin Biotechnol* 2006; 17: 431-436 [PMID: 16781865 DOI: S0958-1669(06)00086-3]
- 16 Pierson J, Norris JL, Aerni HR, Svenningsson P, Caprioli RM, Andrén PE. Molecular profiling of experimental Parkinson's disease: direct analysis of peptides and proteins on brain tissue sections by MALDI mass spectrometry. *J Proteome Res* 2004; 3: 289-295 [PMID: 15113106]
- 17 Grossi C, Francese S, Casini A, Rosi MC, Luccarini I, Fiorentini A, Gabbiani C, Messori L, Moneti G, Casamenti F. Clioquinol decreases amyloid-beta burden and reduces working memory impairment in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009; 17: 423-440 [PMID: 19363260 DOI: 10.3233/JAD-2009-1063]
- 18 Roy S, Touboul D, Brunelle A, Germain DP, Prognon P, Lapr v te O, Chaminade P. [Imaging mass spectrometry: a new tool for the analysis of skin biopsy. Application in Fabry's disease]. *Ann Pharm Fr* 2006; 64: 328-334 [PMID: 17095952 DOI: MDOI-APF-09-2006-64-5-0003-4509-101019-200602025]
- 19 Rauser S, Marquardt C, Balluff B, Deininger SO, Albers C, Belau E, Hartmer R, Suckau D, Specht K, Ebert MP, Schmitt M, Aubele M, H f ler H, Walch A. Classification of HER2 receptor status in breast cancer tissues by MALDI imaging mass spectrometry. *J Proteome Res* 2010; 9: 1854-1863 [PMID: 20170166 DOI: 10.1021/pr901008d]
- 20 Thiery G, Shchepinov MS, Southern EM, Audebourg A, Audard V, Terris B, Gut IG. Multiplex target protein imaging in tissue sections by mass spectrometry--TAMSIM. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007; 21: 823-829 [PMID: 17294518 DOI: 10.1002/rcm.2895]
- 21 Lemaire R, Menguellet SA, Stauber J, Marchaudon V, Lucot JP, Collinet P, Farine MO, Vinatier D, Day R, Ducoroy P, Salzet M, Fournier I. Specific MALDI imaging and profiling for biomarker hunting and validation: fragment of the 11S proteasome activator complex, Reg alpha fragment, is a new potential ovary cancer biomarker. *J Proteome Res* 2007; 6: 4127-4134 [PMID: 17939699 DOI: 10.1021/pr702722]
- 22 Shimma S, Sugiura Y, Hayasaka T, Hoshikawa Y, Noda T, Setou M. MALDI-based imaging mass spectrometry revealed abnormal distribution of phospholipids in colon cancer liver metastasis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 855: 98-103 [PMID: 17369111 DOI: 10.1016/j.jchromb.2007.02.037]
- 23 张会涛, 刘晓璐, 沈滨, 杜雅菊. 结直肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 991-995
- 24 郑杰. 结直肠息肉和结直肠癌. *中华病理学杂志* 2005; 34: 4-5
- 25 de Wit M, Jimenez CR, Carvalho B, Belien JA, Delisvan Diemen PM, Mongera S, Piersma SR, Vikas M, Navani S, Pont n F, Meijer GA, Fijneman RJ. Cell surface proteomics identifies glucose transporter type 1 and prion protein as candidate biomarkers for colorectal adenoma-to-carcinoma progression. *Gut* 2012; 61: 855-864 [PMID: 21890811 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300511]
- 26 Luo YX, Cui J, Wang L, Chen DK, Peng JS, Lan P, Huang MJ, Huang YH, Cai SR, Hu KH, Li MT, Wang JP. Identification of cancer-associated proteins by proteomics and downregulation of β -tropomyosin expression in colorectal adenoma and cancer. *Proteomics Clin Appl* 2009; 3: 1397-1406 [PMID: 21136959 DOI: 10.1002/prca.200900070]
- 27 Choi JW, Liu H, Shin DH, Yu GI, Hwang JS, Kim ES, Yun JW. Proteomic and cytokine plasma biomarkers for predicting progression from colorectal adenoma to carcinoma in human patients. *Proteomics* 2013; 13: 2361-2374 [PMID: 23606366 DOI: 10.1002/pmic.201200550]
- 28 Cazares LH, Troyer D, Mendrinos S, Lance RA, Nyalwidhe JO, Beydoun HA, Clements MA, Drake RR, Semmes OJ. Imaging mass spectrometry of a specific fragment of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase 2 discriminates cancer from uninvolved

- prostate tissue. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5541-5551 [PMID: 19690195]
- 29 Hanselmann M, Kirchner M, Renard BY, Amstalden ER, Glunde K, Heeren RM, Hamprecht FA. Concise representation of mass spectrometry images by probabilistic latent semantic analysis. *Anal Chem* 2008; 80: 9649-9658 [PMID: 18989936 DOI: 10.1021/ac801303x]
- 30 Deininger SO, Ebert MP, Fütterer A, Gerhard M, Röcken C. MALDI imaging combined with hierarchical clustering as a new tool for the interpretation of complex human cancers. *J Proteome Res* 2008; 7: 5230-5236 [PMID: 19367705 DOI: 10.1021/pr8005777]
- 31 Hanselmann M, Köthe U, Kirchner M, Renard BY, Amstalden ER, Glunde K, Heeren RM, Hamprecht FA. Toward digital staining using imaging mass spectrometry and random forests. *J Proteome Res* 2009; 8: 3558-3567 [PMID: 19469555 DOI: 10.1021/pr900253y]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

Barrett食管的分子机制

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 教授, 主任医师, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本文由黄颖秋独立完成.

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 研究生导师, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137

收稿日期: 2013-08-02 修回日期: 2013-10-27

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Molecular mechanisms responsible for pathogenesis of Barrett's esophagus

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com

Received: 2013-08-02 Revised: 2013-10-27

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

Barrett's esophagus (BE) is defined as the metaplastic conversion of the distal esophageal squamous epithelium to intestinalized columnar epithelium. It is a premalignant condition associated with esophageal adenocarcinoma (EAC) and is the major risk factor for EAC. Recent studies suggest that the molecular mechanisms responsible for the pathogenesis of BE are closely related to transcription factors, signaling proteins and microRNAs (miRNAs). MiRNAs are expected to be used as novel biomarkers for the diagnosis, prognosis assessment and targeted treatment of EAC. This article summarizes recent results involving stem cells, immune factors, transcription factors, DNA methylation, nitric oxide, signaling pathways, microRNAs in the development of BE. Understanding of the molecular mechanisms behind the pathogenesis

of BE has important implications for improved management of BE and EAC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Barrett's esophagus; Metaplasia; Stem cells; Transcription factors; Signaling pathways; miRNA; Pathogenesis

Huang YQ. Molecular mechanisms responsible for pathogenesis of Barrett's esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3813-3820 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3813>

摘要

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是指食管下段的复层鳞状上皮被柱状上皮替代的一种病理现象. BE为食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前状态及主要危险因素. 最近研究表明, BE的分子机制与转录因子、信号蛋白及microRNAs(miRNAs)等密切相关. miRNAs有望成为新的生物标志物, 用于EAC的诊断、预后评估和靶向治疗. 本文详尽阐述了干细胞、免疫因素、转录因子、DNA甲基化、一氧化氮、信号通路及miRNAs等因素在BE机制中的作用, 为改善BE和EAC的治疗提供了新的思路.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Barrett食管; 化生; 干细胞; 转录因子; 信号通路; miRNA; 发病机制

核心提示: Barrett食管(Barrett's esophagus)为食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前状态, 分子机制十分复杂, 涉及细胞起源、免疫因素、转录因子、DNA甲基化、一氧化氮、信号蛋白及miRNAs等因素. miRNAs有望成为新的生物标志物, 用于EAC的诊断、预后评估和靶向治疗.

黄颖秋. Barrett食管的分子机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(34): 3813-3820 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3813>

■背景资料

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是胃食管反流病(gastro-esophageal reflux disease, GERD)的并发症, 为食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前状态. BE的潜在风险是并发EAC. 近几十年来, 美国的EAC发病率呈显著上升趋势, 已达食管癌的50%以上. 因此, 备受重视. 随着分子生物学技术的迅猛发展, BE分子机制领域的研究已取得长足进步, 对于EAC的早期诊断、治疗及预后评估均有其重要意义.

■同行评议者

吕宾, 教授, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院); 张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■ 研发前沿

miRNAs作为一类小分子核苷酸,与人类肿瘤的发生、发展以及预后密切相关,miRNAs在BE-EAC进程中的异常表达,即可作为分子治疗靶点,也可作为评估预后的分子生物学标志。

0 引言

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的并发症,为食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前状态,是指食管下段的复层鳞状上皮被单层柱状上皮替代的一种病理现象^[1],其是否应包含杯状细胞尚存争议^[2,3]。因忽视杯状细胞可能会使许多患者被额外贴上BE标签^[4],美国消化病学会仍将杯状细胞视为诊断BE的必要条件,并将胃食管连接部(gastroesophageal junction, GEJ)的内镜和组织学界定视为正确诊断BE的前提^[5]。大约4.1%的BE患者有特殊型肠化(specialized intestinal metaplasia, SIM),且常与贲门黏膜型化生并存^[6]。BE的潜在风险是并发EAC^[7],尤其是长段BE与EAC的发生更为密切^[8]。近年来,美国食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的发病率呈下降趋势,但EAC却呈显著上升趋势,已引起高度重视^[9]。但我国情况似有不同,EAC仅占食管癌的1%-5%^[10],其特征也与GEJ癌迥异^[11]。随着分子生物学技术的发展,BE的基础研究已取得长足进步^[12,13]。应用基因芯片分析BE黏膜及其周围鳞状上皮的差异基因,从RNA或蛋白质水平探讨BE的分子机制有望为BE的治疗提供新的分子靶点^[14,15]。本文就BE的分子机制概述如下。

1 BE的细胞起源

BE的细胞起源尚存争议,可能与如下因素有关^[16]:(1)来源于食管鳞状上皮的基底细胞;(2)来源于食管贲门腺体细胞;(3)来源于食管干细胞;(4)来源于骨髓干细胞。Goldman等^[17]研究发现,反复置于胆汁酸(bile acid, BA)中的食管鳞状细胞株HET-1A可抵抗酸化,并可见柱状变异标志物表达,HET-1A细胞还可激活STAT3、核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX2)、白介素-6(interleukin 6, IL-6)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(phosphorylate-mammalian target of rapamycin, p-mTOR)以及Mcl-1等信号通路,提示鳞状细胞长期暴露于酸性BA可使之显示与BE标志物相同的特征。Quante等^[18]采用转基因BE小鼠模型研究发现,贲门腺体细胞通过促肿瘤因子IL-1 β -IL-6信号级联放大(signaling cascade)及Dll1-依赖Notch信号通路分化形成BE细胞。换言之,BE的潜在细胞起源为贲门

腺体细胞^[19]。标记滞留细胞(label-retaining cells, LRCs)常被用于检测组织中的干细胞分布^[20]。Pan等^[20]发现,BE组织中的LRCs显著增加,且具有无限增殖、自我更新和多向分化的干细胞特性,提示BE上皮源于干细胞。Vega等^[21]分别对正常食管黏膜(normal esophageal mucosa, NEM)、BE及EAC的DCAMKL-1、LGR5及Msi-1(干细胞标志物)表达情况研究发现,DCAMKL-1在NEM低表达,但在BE及EAC高表达,EAC组织的基质DCAMKL-1染色较毗邻上皮显著增加,BE黏膜的DCAMKL-1、LGR5、Msi-1 mRNA表达均较NEM显著上调,提示食管干细胞不仅为BE来源,且在BE-EAC的进程中可能起重要作用^[21,22]。尽管骨髓来源细胞(bone marrow-derived cells, BMDCs)参与EAC上皮细胞和间质细胞的形成^[23],但骨髓干细胞是否为BE来源仍存争议,其研究结果也大相径庭^[24-26]。Upton等^[24]和Barbera等^[25]均证实BE源于骨髓干细胞,但Aikou等^[26]却得出截然相反的结论。此外,Wang等^[27]应用p63缺陷的BE小鼠模型研究发现,p63缺乏的胚胎细胞能迅速发展成基因表达类似于BE化生的小肠样化生,此类胚胎细胞持续存在于成年小鼠和人食管黏膜鳞柱状上皮交界处,并向毗邻的特异性鳞状细胞迁移,提示BE的起源并非基因突变,而是细胞谱系间的相互竞争所致。von Holzen等^[28]对此研究^[27]给予高度评价,认为这是BE起源的一种神奇细胞,是BE发病机制的一种全新概念,对此类胚胎细胞的进一步研究有重要意义。

2 BE与免疫细胞

BE进展至EAC可能存在树突状细胞(dendritic cells, DCs)分化成熟障碍导致的免疫逃逸(immune evasion)。Somja等^[29]将骨髓树突状细胞(myeloid dendritic cells, MDCs)与BE和EAC细胞株共同培养,并与浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, PDCs)对比发现,MDCs有耐受表型,MDCs与EAC细胞株共同培养刺激调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)从幼稚CD4⁺T细胞的变异,BE的化生或癌前组织中可见Treg浸润,提示在BE-EAC进程中,上皮细胞分泌的可溶性因子不仅影响DCs的分布并通过耐受逃逸促进EAC进展。Bobryshev等^[30]发现,BE活检组织的贲门黏膜中含有大量DCs,提示贲门黏膜的免疫炎症在修饰局部组织环境促进BE的SIM过程中起重要作用。Lind等^[31]对BE化生组

织中免疫细胞的成分研究发现, BE组织的淋巴细胞归巢主要归因于肠归巢信号, 而非激活的炎症反应. Kavanagh等^[32]认为, T淋巴细胞在引发GERD和BE的炎症反应中起重要作用, T细胞的免疫应答与其表型间的免疫平衡可能在BE-EAC的进程中至关重要. Trowbridge等^[33]认为, CD4⁺ T细胞、巨噬细胞、DCs等免疫细胞通过Wnt、Hedgehog、NF- κ B、IL-6-JAK-STAT等信号通路参与GERD的发病机制, 而1,25-二羟维生素D(1,25-dihydroxyvitamin D)通过调节上述免疫细胞与信号通路之间的关系而参与BE及EAC的发病机制.

3 BE与转录因子

BE的肠化生与转录因子(transcription factors)激活或失活密切相关^[34-37]. DiMaio等^[34]研究发现, 促进鳞状上皮发育的转录因子Sox2、p63在ESCC的表达显著高于EAC, 而腺癌相关基因(adenocarcinoma-associated gene)前梯度同源物2(anterior gradient homolog 2, AGR2)则在EAC高度表达. Sox2通过激活促进细胞增殖的AKT/mTORC1信号通路, 从而促进ESCC的肿瘤生长^[35]. p63转录因子的缺乏或失活使残留的胚胎细胞迁移至炎症或GERD损伤的正常食管黏膜组织, 似乎可解释BE的肠上皮化生^[36]. Zhao等^[37]认为, 尾型相关同源盒转录因子(caudal-related homeodomain transcription factors, CDXs)CDX1和CDX2通常表达于小肠和大肠, 并在肠上皮的细胞增殖和变异中发挥重要作用, 顶端钠依赖性胆汁酸运输因子(apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT)主要表达于末端回肠, 在此作为胆盐重吸收的关键因素. 酸和胆汁反流诱发CDXs基因表达可能导致BE形成, CDXs介导启动子激活可能引起ASBT异常表达^[37]. BE中除CDX1和CDX2表达上调外, ASBT也表达上调, 但CDX1/CDX2及ASBT在高度异型增生(high-grade dysplasia, HGD)的BE中则表达下调, 提示CDXs和ASBT是EAC进展的抑制因子(inhibitory factors)^[37]. NF- κ B在酸或胆汁酸环境下通过启动子脱甲基促进食管上皮CDX2表达致使BE肠化生^[38], 并通过抑制DNA修复酶表达、促进CDX2表达而参与EAC的致癌机制^[39]. 骨形态发生蛋白4(bone morphogenetic protein 4, BMP4)属于转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)家族成员, 其下游靶序列(P-Smad1/5/8)在BE化生组织中显著表达, 而在正常鳞状上皮无表

达^[40]. 人的GERD模型常被用于研究非特殊型柱状上皮化生(non-specialized columnar type of metaplasia, NSCM)及BMP4和CDX2在BE形成中的作用^[40]. Castillo等^[40]采用免疫组织化学、实时定量PCR、Western blot及原位杂交技术对18例食管切除术患者残余食管标本中的BMP通路活性(BMP4/P-Smad 1/5/8)及CDX2、CDX1的表达情况研究发现, BMP4 mRNA、CDX2 mRNA在NSCM组织中的水平显著高于鳞状上皮组织, 提示BMP4通路在NSCM中被激活, CDX2的早期表达与BE的柱状上皮化生显著相关^[40]. 转录因子Sox9和BMP4为Shh信号(sonic hedgehog signaling, Shh)通路的下游介质, Sox9主要表达于肠上皮细胞, 特别是干细胞和潘氏细胞, BMP4可诱发CDX2表达致使含有杯状细胞的肠上皮化生, Shh信号可能为诱发食管柱状上皮化生的初始因素^[41]. Shh靶基因在BE和EAC的表达显著高于ESCC^[42]. Clemons等^[41]采用一种新的体内组织重构模型研究发现, Sox9足以驱动鳞状上皮的BE样柱状化生, 提示Shh介导的Sox9表达可能是BE发生的重要早期事件. 因此, Shh信号通路抑制剂有望于不久的将来被用于治疗BE和/或EAC^[42]. 上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)使癌细胞从原始组织迁移并侵袭基质成分, 在肿瘤的演进中发挥关键作用, E-钙黏蛋白(E-cadherin)为细胞间黏附连接的主要分子, 转录因子Snail、Slug、Twist常抑制E-钙黏蛋白启动子而引发EMT, 促使肿瘤的侵袭和转移^[43]. CD133是一种熟知的肿瘤始动细胞标志物^[43]. Tomizawa等^[43]采用免疫组织化学方法对源于BE的早期EAC标本中E-钙黏蛋白相关转录因子以及肿瘤干细胞标志物的特征研究发现, 肿瘤侵袭边缘可见大量的Snail、Slug、Twist和CD133表达, 提示早期癌症主要由转移潜能细胞组成, 此证据进一步表明对早期EAC有必要完全切除.

4 BE与DNA甲基化

Agarwal等^[12]认为, DNA甲基化变异在BE上皮化生-异型增生-EAC的多级转化过程中非常普遍, 已证实BE进程中存在抑癌基因启动子、黏附分子、DNA修复基因的甲基化变异. 这些表观遗传变异可被用作EAC危险分级和早期检测的分子标志物^[12]. 研究发现, 蛋白编码基因(protein-coding genes)甲基化变异与BE和EAC相关^[44]. Wu等^[44]应用高分辨率甲基化图谱分析显示, BE

■相关报道

Saad等采用基因芯片及qRT-PCR技术确认了一种与EAC相关的独特miRNA信号, 并以此作为与其他上消化道肿瘤鉴别的分子标志.

■创新盘点

本文详尽阐述了近5年BE分子机制领域的最新研究进展,涉及BE的细胞起源、免疫逃逸、转录因子、DNA甲基化、一氧化氮、信号蛋白以及microRNAs等诸多因素。

和EAC包括非编码区域的甲基化减少, BE和EAC的长度非编码RNA AFAP1-AS1甲基化减少, 以此抑制EAC细胞的癌相关生物学功能. Alvi等^[45]发现, 约70%已知印迹基因的DNA甲基化变异存在于有致癌倾向的BE组织中. 抑癌基因的DNA甲基化变异常见于BE和EAC, 这可能影响BE-EAC的启动和进展^[46]. 构成细胞桥粒复合体(desmosome complex)的*PKP1*是一种新的EAC甲基化基因^[46]. Kaz等^[46]发现, *PKP1*的甲基化罕见于NEM鳞状上皮(5/55; 9.1%)和BE(5/39; 12.8%), 但常见于高度异型增生(high-grade dysplasia, HGD)的BE或EAC(20/60; 33.3%, $P<0.05$). 此外, BE和HGD/EAC的*PKP1*水平较NEM鳞状上皮者下降, BE细胞系CP-A和CP-D(二者通常表达*PKP1*)中的*PKP1*基因敲减导致细胞运动增加. Kaz等^[46]认为, 继发于启动子甲基化以及其他机制的*PKP1*下降, 通过减少细胞桥粒装配和增加细胞活性可促进BE-EAC的进展. 此外, Kaz等^[47]在另一项研究中应用甲基化基因芯片技术对NEM鳞状上皮、BE、BE/HGD及EAC的总基因甲基化状态检测发现, BE和EAC的甲基化状态存在高、低甲基化表型, 准确区分BE、BE/HGD及EAC的CpG位点可能有助于发现具有临床潜能的生物学标志物, 以此用于BE和EAC的诊断和预后评估.

5 BE与一氧化氮

一氧化氮(nitric oxide, NO)由诱生型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)介导产生, 不仅在食管神经肌肉调控^[48]和GERD发病机制^[49]中至关重要, 在BE-EAC的进程中可能也起重要作用^[50,51]. 此外, NO还涉及组织和细胞中的DNA损伤诱导和细胞信号转导异常^[50]. McAdam等^[50]应用实时PCR、Western blot及NO敏感荧光探针技术对NO及iNOS在体外食管细胞DNA损伤诱导和NF- κ B信号传导中的作用研究显示, 类似于胃酸和胆汁酸样的反流成分(脱氧胆酸, DCA)能诱导食管细胞的iNOS基因和蛋白质表达, 从而促进NO生成, iNOS的表达上调不依赖于NF- κ B活性; 通过微核试验(micronucleus assay)判断, DCA诱导DNA损伤不依赖于NF- κ B, 仅部分依赖于iNOS和NO; 通过转录因子酶联免疫吸附试验以及NF- κ B连锁基因(如*IL-8*)的基因表达研究显示, 这些相同的反流成分也激活了致癌的转录因子NF- κ B. 值得一提的是, NF- κ B活性的基础水平(可能由DCA诱导的NF- κ B)有

赖于iNOS/NO, 这可能导致一个正反馈循环, 以此被诱导的iNOS成为NF- κ B上游, 延长并潜在地放大此信号, 并通过NO激活NF- κ B^[50]. 此外, EAC的iNOS蛋白质水平显著增加, 提示NO与EAC的进展有关^[50]. Kusaka等^[51]研究发现, BE组织中表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、CDX2及硝基络氨酸的表达显著高于食管鳞状上皮, 提示NO可能通过EGFR磷酸化直接诱导CDX2表达, NO在GEJ周围的鳞状上皮至BE的进程中起重要作用. Goldman等^[52]研究显示, 反流物中的胆汁酸能立即激活NOS的全部3个亚型, 致使NO增加和钠-氢交换(sodium-hydrogen exchanger, NHE)抑制, 进而引起细胞内酸化增加和DNA损伤, 这可能导致基因突变和肿瘤进展^[52]. 此研究揭示了胆汁酸诱发DNA损伤的新机制. 因此, 除胃酸反流外, 胆汁反流在BE患者也应被控制^[52]. 已证实, NO可致BE的双链DNA断裂以及在肿瘤侵入中发挥作用^[53]. Clemons等^[53]应用实时逆转录PCR技术对BE/HGD和EAC的细胞株研究发现, NO诱导细胞株中的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-1、-3、-7、-9、-10以及金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)-1、-2、-3表达. 此外, 以NO诱导MMP-1和TIMP-1表达增加对BE活检标本的间接体内治疗提示, NO通过下调上皮细胞的MMP和TIMP表达而增加侵袭^[53]. 对活检标本的微阵列分析和免疫组织化学研究显示, 在非异型增生BE至EAC的进程中, 尽管不能直接归因于NO的作用, 但MMP-1、-3、-7、-10和TIMP-1的表达增加^[53]. 因此, NO通过下调MMP和TIMP表达以提高侵袭潜力而在BE致癌机制中发挥作用.

6 BE与信号通路

BE-EAC的进程可能受WNT、Notch、BMP、Sonic HH、TGF- β 等与小肠增殖分化相关的信号通路调控^[54,55]. Mendelson等^[56]分别对正常食管黏膜、BE、EAC及其细胞株中的TGF- β 和Notch信号组分评估显示, 与 β 2SP/TGF- β 信号缺失伴随的Notch信号持续激活对EAC有潜在靶向治疗价值. Chen等^[57]检测了41对食管活检标本中WNT和Notch信号关键调节因子(Tcf4、Cdx2、Hes1和Math1)的表达情况, 并分别用酸、胆汁酸及二者混合物对正常食管细胞处理后观察各组的食管细胞形态学变化. 结果显示, Tcf4、Cdx2、Hes1和Math1的表达水平在SIM

组和HGD组均显著增加^[57]。用400 μmol 胆汁酸处理后第7天,可见明显的超微结构变化以及关键调节因子的过表达^[57]。此研究表明,WNT和Notch信号关键调节因子的异常表达在BE组织以及经酸、胆汁酸和二者混合物处理的正常食管细胞均可被观察到^[57]。但Moyes等^[58]研究发现,WNT信号异常激活可能只在BE化生启动中起次要作用,而在异型增生的进程中发挥更关键作用。Dvorak等^[59]和Gibson等^[60]认为,IL-6/STAT3信号通路在BE-EAC的进程中也起重要作用。此外,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可激活VEGF受体(VEGF receptor, VEGFR)以自分泌方式促进肿瘤细胞增殖^[61]。Zhang等^[61]发现,自分泌VEGFR信号通过磷脂酶C(phospholipase C, PLC)依赖途径促进BE上皮的肿瘤细胞增殖。因此,减少自分泌VEGFR信号的靶向治疗策略(如:应用舒尼替尼)有望被用于预防或治疗BE癌变^[61]。

7 BE与microRNAs

microRNAs(miRNAs)是一类小分子非编码RNA,通过与靶基因序列的相互作用调控细胞增殖、分化和凋亡过程,在BE化生(Barrett's metaplasia, BM)-EAC的进程中起重要作用^[62]。作为分子标志物,miRNAs在BE和EAC中的不同表达有助于识别BE并发EAC的风险,对于BE和EAC的诊断、治疗乃至预后评估均有重要意义^[62,63]。Leidner等^[63]对BM-HGD-EAC进程中的26个候选miRNAs评估发现,23个miRNAs于BM初期下调,2个miRNAs(miR-31、miR-31*)仅在HGD和EAC频繁下调,而第3个miRNA(miR-375)仅在EAC显著下调,提示miR-31和miR-375分别与BE恶性进程的早期和晚期密切相关。Saad等^[64]发现,miR-194、miR-200a、miR-192的过表达仅于EAC早期显著升高,说明这些miRNAs可能只涉及EAC肿瘤发生,而与其进展无关^[64],此结果与Fassan等^[65]研究相似。此外,BE组织中miR-192、miR-194、miR-196a、miR-196b的显著表达有助于识别EAC风险^[66]。Sakai等^[62]采用Meta分析对BE和EAC研究发现,4种miRNAs(miR-25、miR-99a、miR-133a、miR-133b)有良好的诊断标志物潜能,5种miRNAs(miR-21、miR-27b、miR-126、miR-143、miR-145)似乎可作为有效的诊断和预后标志物。EAC相关癌基因和抑癌基因的表达失衡可诱导EAC的发生、发展^[67]。在BE-EAC的进

程中,除miR-223表达显著上调外^[67],一些已知癌基因miRNAs(miR-21、miR-25、miR-223)和抑癌基因miRNAs(miR-205、miR-203、let-7c、miR-133a)的表达在逐渐发生变化,而某些新被认定的miRNAs(miR-301b、miR-618、miR-23b)表达也在逐渐发生变化^[68]。研究显示,miR-375下调以及5种miR-17-92同源物上调仅见于EAC^[68],miR-203下调也与EAC进展有关^[64],上述miRNAs有望成为EAC进展的生物标志物。此外,有研究显示,miRNA-145通过GATA6间接调节BMP4信号通路^[69],miRNA-221、miRNA-222过表达导致的CDX2降解^[70]等因素均可能在EAC的致癌机制中起重要作用。

8 结论

BE的分子机制非常复杂,涉及细胞起源、免疫机制、转录因子、DNA甲基化、一氧化氮、信号蛋白以及miRNAs等诸多因素。部分miRNAs因具有癌基因或抑癌基因作用,有望成为新的生物学标志物而用于EAC的诊断、预后评估及靶向治疗。分子生物学技术的飞速发展寻找EAC生物学标志物提供了途径,EAC患者血清miRNAs表达谱异常对其早期诊断及预后评估均有重要价值,但目前尚缺乏大规模健康人群的血清miRNAs表达谱资料,血清内源性miRNAs的参照体系也尚未建立,这些均有待于进一步研究,前景值得期待。

9 参考文献

- 1 黄颖秋. Barrett's食管的研究现状. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2567-2571
- 2 DeMeester SR. Letter to the editor regarding "Definition of Barrett's esophagus: time for a rethink-is intestinal metaplasia dead?". *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1201-1202; author reply 1202-1203 [PMID: 20445513 DOI: 10.1038/ajg.2010.6]
- 3 Vieth M, Langner C, Neumann H, Takubo K. Barrett's esophagus. Practical issues for daily routine diagnosis. *Pathol Res Pract* 2012; 208: 261-268 [PMID: 22513275 DOI: 10.1016/j.prp.2012.03.001]
- 4 Westerhoff M, Hovan L, Lee C, Hart J. Effects of dropping the requirement for goblet cells from the diagnosis of Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 1232-1236 [PMID: 22642957 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.05.013]
- 5 Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association technical review on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011; 140: e18-52; quiz e13 [PMID: 21376939]
- 6 Nemeth IB, Rosztoczy A, Izbeki F, Roka R, Gecse K, Sukosd F, Nyari T, Wittmann T, Tiszlavicz L. A renewed insight into Barrett's esophagus: comparative histopathological analysis of esophageal columnar

■应用要点

本文系统阐述了BE发生的分子生物学机制,不仅对BE的基础研究有重要的指导意义,也对BE的早期诊断、治疗及预防提供了新的思路。

同行评价

本文详尽综述了BE分子机制领域的最新研究进展,内容新颖,对BE的基础研究及临床工作有重要的参考价值。

- 7 Pohl H, Wrobel K, Bojarski C, Voderholzer W, Sonnenberg A, Rösch T, Baumgart DC. Risk factors in the development of esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 200-207 [PMID: 23247577 DOI: 10.1038/ajg.2012.387]
- 8 Anaparthi R, Gaddam S, Kanakadandi V, Alsop BR, Gupta N, Higbee AD, Wani SB, Singh M, Rastogi A, Bansal A, Cash BD, Young PE, Lieberman DA, Falk GW, Vargo JJ, Thota P, Sampliner RE, Sharma P. Association Between Length of Barrett's Esophagus and Risk of High-grade Dysplasia or Adenocarcinoma in Patients Without Dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1430-1436 [PMID: 23707463 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.05.007]
- 9 Spechler SJ. Barrett's esophagus: the American perspective. *Dig Dis* 2013; 31: 10-16 [PMID: 23797117 DOI: 10.1159/000347099]
- 10 Huang Q, Fang DC, Yu CG, Zhang J, Chen MH. Barrett's esophagus-related diseases remain uncommon in China. *J Dig Dis* 2011; 12: 420-427 [PMID: 22118690 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00535.x]
- 11 Huang Q. Carcinoma of the gastroesophageal junction in Chinese patients. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7134-7140 [PMID: 23326117 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7134]
- 12 Agarwal A, Polineni R, Hussein Z, Vigoda I, Bhagat TD, Bhattacharyya S, Maitra A, Verma A. Role of epigenetic alterations in the pathogenesis of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2012; 5: 382-396 [PMID: 22808291]
- 13 Zhai R, Zhao Y, Su L, Cassidy L, Liu G, Christiani DC. Genome-wide DNA methylation profiling of cell-free serum DNA in esophageal adenocarcinoma and Barrett esophagus. *Neoplasia* 2012; 14: 29-33 [PMID: 22355271]
- 14 Sinicrope FA, Broaddus R, Joshi N, Gerner E, Half E, Kirsch I, Lewin J, Morlan B, Hong WK. Evaluation of difluoromethylornithine for the chemoprevention of Barrett's esophagus and mucosal dysplasia. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4: 829-839 [PMID: 21636549 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0243]
- 15 Akagi T, Ito T, Kato M, Jin Z, Cheng Y, Kan T, Yamamoto G, Olaru A, Kawamata N, Boulton J, Soukiasian HJ, Miller CW, Ogawa S, Meltzer SJ, Koeffler HP. Chromosomal abnormalities and novel disease-related regions in progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2009; 125: 2349-2359 [PMID: 19670330 DOI: 10.1002/ijc.24620]
- 16 Zhang HY, Spechler SJ, Souza RF. Esophageal adenocarcinoma arising in Barrett esophagus. *Cancer Lett* 2009; 275: 170-177 [PMID: 18703277 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.07.006]
- 17 Goldman A, Chen HD, Roesly HB, Hill KA, Tome ME, Dvorak B, Bernstein H, Dvorak K. Characterization of squamous esophageal cells resistant to bile acids at acidic pH: implication for Barrett's esophagus pathogenesis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G292-G302 [PMID: 21127259]
- 18 Quante M, Bhagat G, Abrams JA, Marache F, Good P, Lee MD, Lee Y, Friedman R, Asfaha S, Dubeykovskaya Z, Mahmood U, Figueiredo JL, Kitajewski J, Shawber C, Lightdale CJ, Rustgi AK, Wang TC. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell* 2012; 21: 36-51 [PMID: 22264787 DOI: 10.1016/j.ccr.2011.12.004]
- 19 Quante M, Abrams JA, Lee Y, Wang TC. Barrett esophagus: what a mouse model can teach us about human disease. *Cell Cycle* 2012; 11: 4328-4338 [PMID: 23095673 DOI: 10.4161/cc.22485]
- 20 Pan Q, Nicholson AM, Barr H, Harrison LA, Wilson GD, Burkert J, Jeffery R, Alison MR, Looijenga L, Lin WR, McDonald SA, Wright NA, Harrison R, Peppelenbosch MP, Jankowski JA. Identification of lineage-uncommitted, long-lived, label-retaining cells in healthy human esophagus and stomach, and in metaplastic esophagus. *Gastroenterology* 2013; 144: 761-770 [PMID: 23266557 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.12.022]
- 21 Vega KJ, May R, Sureban SM, Lightfoot SA, Qu D, Reed A, Weygant N, Ramanujam R, Souza R, Madhoun M, Whorton J, Anant S, Meltzer SJ, Houchen CW. Identification of the putative intestinal stem cell marker doublecortin and CaM kinase-like-1 in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 773-780 [PMID: 21916995 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06928.x]
- 22 Stamp LA, Braxton DR, Wu J, Akopian V, Hasegawa K, Chandrasoma PT, Hawes SM, McLean C, Petrovic LM, Wang K, Pera MF. The GCTM-5 epitope associated with the mucin-like glycoprotein FCGBP marks progenitor cells in tissues of endodermal origin. *Stem Cells* 2012; 30: 1999-2009 [PMID: 22761039 DOI: 10.1002/stem.1167]
- 23 Hutchinson L, Stenstrom B, Chen D, Piperdi B, Levey S, Lyle S, Wang TC, Houghton J. Human Barrett's adenocarcinoma of the esophagus, associated myofibroblasts, and endothelium can arise from bone marrow-derived cells after allogeneic stem cell transplant. *Stem Cells Dev* 2011; 20: 11-17 [PMID: 20677919 DOI: 10.1089/scd.2010.0139]
- 24 Upton MP, Pai RK, Vieth M, Neumann H, Langner C. Esophageal disease and pathology. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1232: 376-380 [PMID: 21950829 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06063.x]
- 25 Barbera M, Fitzgerald RC. Cellular origin of Barrett's metaplasia and oesophageal stem cells. *Biochem Soc Trans* 2010; 38: 370-373 [PMID: 20298185 DOI: 10.1042/BST0380370]
- 26 Aikou S, Aida J, Takubo K, Yamagata Y, Seto Y, Kaminishi M, Nomura S. Columnar metaplasia in a surgical mouse model of gastro-esophageal reflux disease is not derived from bone marrow-derived cell. *Cancer Sci* 2013; 104: 1154-1161 [PMID: 23734763 DOI: 10.1111/cas.12213]
- 27 Wang X, Ouyang H, Yamamoto Y, Kumar PA, Wei TS, Dagher R, Vincent M, Lu X, Bellizzi AM, Ho KY, Crum CP, Xian W, McKeon F. Residual embryonic cells as precursors of a Barrett's-like metaplasia. *Cell* 2011; 145: 1023-1035 [PMID: 21703447 DOI: 10.1016/j.cell.2011.05.026]
- 28 von Holzen U, Enders GH. A surprise cell of origin for Barrett's esophagus. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 588-591 [PMID: 22549156 DOI: 10.4161/cbt.20088]
- 29 Somja J, Demoulin S, Roncarati P, Herfs M, Ble-tard N, Delvenne P, Hubert P. Dendritic cells in Barrett's esophagus carcinogenesis: an inadequate microenvironment for antitumor immunity? *Am J Pathol* 2013; 182: 2168-2179 [PMID: 23619476 DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.02.036]

- 30 Bobryshev YV, Tran D, Killingsworth MC, Buckland M, Lord RV. Dendritic cell-associated immune inflammation of cardiac mucosa: a possible factor in the formation of Barrett's esophagus. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 442-450 [PMID: 19015928 DOI: 10.1007/s11605-008-0746-x]
- 31 Lind A, Siersema PD, Kusters JG, Van der Linden JA, Knol EF, Koenderman L. The immune cell composition in Barrett's metaplastic tissue resembles that in normal duodenal tissue. *PLoS One* 2012; 7: e33899 [PMID: 22509265 DOI: 10.1371/journal.pone.0033899]
- 32 Kavanagh ME, O'Sullivan KE, O'Hanlon C, O'Sullivan JN, Lysaght J, Reynolds JV. The esophagitis to adenocarcinoma sequence; the role of inflammation. *Cancer Lett* 2013 Aug 27. [Epub ahead of print] [PMID: 23994342 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.08.017]
- 33 Trowbridge R, Kizer RT, Mittal SK, Agrawal DK. 1,25-dihydroxyvitamin D in the pathogenesis of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Expert Rev Clin Immunol* 2013; 9: 517-533 [PMID: 23730883 DOI: 10.1586/eci.13.38]
- 34 DiMaio MA, Kwok S, Montgomery KD, Lowe AW, Pai RK. Immunohistochemical panel for distinguishing esophageal adenocarcinoma from squamous cell carcinoma: a combination of p63, cytokeratin 5/6, MUC5AC, and anterior gradient homolog 2 allows optimal subtyping. *Hum Pathol* 2012; 43: 1799-1807 [PMID: 22748473 DOI: 10.1016/j.humpath.2012.03.019]
- 35 Gen Y, Yasui K, Nishikawa T, Yoshikawa T. SOX2 promotes tumor growth of esophageal squamous cell carcinoma through the AKT/mammalian target of rapamycin complex 1 signaling pathway. *Cancer Sci* 2013; 104: 810-816 [PMID: 23510069 DOI: 10.1111/cas.12155]
- 36 Lefort K, Dotto GP. p63 and epithelial metaplasia: a gutsy choice. *Cell* 2011; 145: 1003-1005 [PMID: 21703442 DOI: 10.1016/j.cell.2011.06.008]
- 37 Zhao J, Gregersen H. Relationships of CDXs and apical sodium-dependent bile acid transporter in Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2736-2739 [PMID: 23687410 DOI: 10.3748/wjg.v19.i18.2736]
- 38 Liu T, Zhang X, So CK, Wang S, Wang P, Yan L, Myers R, Chen Z, Patterson AP, Yang CS, Chen X. Regulation of Cdx2 expression by promoter methylation, and effects of Cdx2 transfection on morphology and gene expression of human esophageal epithelial cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 488-496 [PMID: 16990345 DOI: 10.1093/carcin/bgl176]
- 39 Burnat G, Majka J, Konturek PC. Bile acids are multifunctional modulators of the Barrett's carcinogenesis. *J Physiol Pharmacol* 2010; 61: 185-192 [PMID: 20436219]
- 40 Castillo D, Puig S, Iglesias M, Seoane A, de Bolós C, Munitiz V, Parrilla P, Comerma L, Poulsom R, Krishnadath KK, Grande L, Pera M. Activation of the BMP4 pathway and early expression of CDX2 characterize non-specialized columnar metaplasia in a human model of Barrett's esophagus. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 227-237; discussion 237 [PMID: 22076569 DOI: 10.1007/s11605-011-1758-5]
- 41 Clemons NJ, Wang DH, Croagh D, Tikoo A, Fennell CM, Murone C, Scott AM, Watkins DN, Phillips WA. Sox9 drives columnar differentiation of esophageal squamous epithelium: a possible role in the pathogenesis of Barrett's esophagus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G1335-G1346 [PMID: 23064761 DOI: 10.1152/ajpgi.00291.2012]
- 42 Yang L, Wang LS, Chen XL, Gatalica Z, Qiu S, Liu Z, Stoner G, Zhang H, Weiss H, Xie J. Hedgehog signaling activation in the development of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of esophagus. *Int J Biochem Mol Biol* 2012; 3: 46-57 [PMID: 22509480]
- 43 Tomizawa Y, Wu TT, Wang KK. Epithelial mesenchymal transition and cancer stem cells in esophageal adenocarcinoma originating from Barrett's esophagus. *Oncol Lett* 2012; 3: 1059-1063 [PMID: 22783391 DOI: 10.3892/ol.2012.632]
- 44 Wu W, Bhagat TD, Yang X, Song JH, Cheng Y, Agarwal R, Abraham JM, Ibrahim S, Bartenstein M, Hussain Z, Suzuki M, Yu Y, Chen W, Eng C, Greally J, Verma A, Meltzer SJ. Hypomethylation of noncoding DNA regions and overexpression of the long noncoding RNA, AFAP1-AS1, in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2013; 144: 956-966. e4 [PMID: 23333711 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.019]
- 45 Alvi MA, Liu X, O'Donovan M, Newton R, Wernisch L, Shannon NB, Shariff K, di Pietro M, Bergman JJ, Ragunath K, Fitzgerald RC. DNA methylation as an adjunct to histopathology to detect prevalent, inconspicuous dysplasia and early-stage neoplasia in Barrett's esophagus. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 878-888 [PMID: 23243219 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2880]
- 46 Kaz AM, Luo Y, Dzieciatkowski S, Chak A, Willis JE, Upton MP, Leidner RS, Grady WM. Aberrantly methylated PKP1 in the progression of Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51: 384-393 [PMID: 22170739 DOI: 10.1002/gcc.21923]
- 47 Kaz AM, Wong CJ, Luo Y, Virgin JB, Washington MK, Willis JE, Leidner RS, Chak A, Grady WM. DNA methylation profiling in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma reveals unique methylation signatures and molecular subclasses. *Epigenetics* 2011; 6: 1403-1412 [PMID: 22139570 DOI: 10.4161/epi.6.12.18199]
- 48 黄颖秋, 张德中, 萧树东. 一氧化氮与消化道动力. 国外医学·消化系疾病分册 1997; 17: 23-27
- 49 黄颖秋, 王昕, 李颢, 刘丽. 一氧化氮在胃食管反流病发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2000; 8: 253-255
- 50 McAdam E, Haboubi HN, Forrester G, Eltahir Z, Spencer-Harty S, Davies C, Griffiths AP, Baxter JN, Jenkins GJ. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide (NO) are important mediators of reflux-induced cell signalling in esophageal cells. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2035-2043 [PMID: 22826608 DOI: 10.1093/carcin/bgs241]
- 51 Kusaka G, Uno K, Iijima K, Endo H, Asano N, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T. The role of nitric oxide in the induction of caudal-type homeobox 2 through epidermal growth factor receptor in the development of Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 1148-1158 [PMID: 22834965 DOI: 10.3109/00365521.2012.703232]
- 52 Goldman A, Shahidullah M, Goldman D, Khailova L, Watts G, Delamere N, Dvorak K. A novel mechanism of acid and bile acid-induced DNA damage

- involving Na⁺/H⁺ exchanger: implication for Barrett's oesophagus. *Gut* 2010; 59: 1606-1616 [PMID: 20876775 DOI: 10.1136/gut.2010.213686]
- 53 Clemons NJ, Shannon NB, Abeyratne LR, Walker CE, Saadi A, O'Donovan ML, Lao-Sirieix PP, Fitzgerald RC. Nitric oxide-mediated invasion in Barrett's high-grade dysplasia and adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1669-1675 [PMID: 20584750 DOI: 10.1093/carcin/bgq130]
 - 54 Streppel MM, Montgomery EA, Maitra A. New Advances in the Pathogenesis and Progression of Barrett's Esophagus. *Curr Mol Med* 2013 Jul 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23865431]
 - 55 Clemons N, Phillips W, Lord RV. Signaling pathways in the molecular pathogenesis of adenocarcinomas of the esophagus and gastroesophageal junction. *Cancer Biol Ther* 2013 Jun 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23792587]
 - 56 Mendelson J, Song S, Li Y, Maru DM, Mishra B, Davila M, Hofstetter WL, Mishra L. Dysfunctional transforming growth factor- β signaling with constitutively active Notch signaling in Barrett's esophageal adenocarcinoma. *Cancer* 2011; 117: 3691-3702 [PMID: 21305538 DOI: 10.1002/cncr.25861]
 - 57 Chen X, Jiang K, Fan Z, Liu Z, Zhang P, Zheng L, Peng N, Tong J, Ji G. Aberrant expression of Wnt and Notch signal pathways in Barrett's esophagus. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 473-483 [PMID: 22889748 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.06.001]
 - 58 Moyes LH, McEwan H, Radulescu S, Pawlikowski J, Lamm CG, Nixon C, Sansom OJ, Going JJ, Fullarton GM, Adams PD. Activation of Wnt signalling promotes development of dysplasia in Barrett's oesophagus. *J Pathol* 2012; 228: 99-112 [PMID: 22653845 DOI: 10.1002/path.4058]
 - 59 Dvorak K, Dvorak B. Role of interleukin-6 in Barrett's esophagus pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2307-2312 [PMID: 23613623 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2307]
 - 60 Gibson MK, Dhaliwal AS, Clemons NJ, Phillips WA, Dvorak K, Tong D, Law S, Pirchi ED, Räsänen J, Krasna MJ, Parikh K, Krishnadath KK, Chen Y, Griffiths L, Colleypriest BJ, Farrant JM, Tosh D, Das KM, Bajpai M. Barrett's esophagus: cancer and molecular biology. *Ann N Y Acad Sci* 2013; 1300: 296-314 [PMID: 24117650 DOI: 10.1111/nyas.12252]
 - 61 Zhang Q, Yu C, Peng S, Xu H, Wright E, Zhang X, Huo X, Cheng E, Pham TH, Asanuma K, Hatanpaa KJ, Rezai D, Wang DH, Sarode V, Melton S, Genta RM, Spechler SJ, Souza RF. Autocrine VEGF Signaling Promotes Proliferation of Neoplastic Barrett's Epithelial Cells Through a PLC-Dependent Pathway. *Gastroenterology* 2013 Oct 8 [Epub ahead of print] [PMID: 24120473 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.10.011]
 - 62 Sakai NS, Samia-Aly E, Barbera M, Fitzgerald RC. A review of the current understanding and clinical utility of miRNAs in esophageal cancer. *Semin Cancer Biol* 2013; 23: 512-521 [PMID: 24013023 DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.08.005]
 - 63 Leidner RS, Ravi L, Leahy P, Chen Y, Bednarchik B, Streppel M, Canto M, Wang JS, Maitra A, Willis J, Markowitz SD, Barnholtz-Sloan J, Adams MD, Chak A, Guda K. The microRNAs, MiR-31 and MiR-375, as candidate markers in Barrett's esophageal carcinogenesis. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51: 473-479 [PMID: 22302717 DOI: 10.1002/gcc.21934]
 - 64 Saad R, Chen Z, Zhu S, Jia P, Zhao Z, Washington MK, Belkhir A, El-Rifai W. Deciphering the unique microRNA signature in human esophageal adenocarcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e64463 [PMID: 23724052 DOI: 10.1371/journal.pone.0064463]
 - 65 Fassan M, Volinia S, Palatini J, Pizzi M, Fernandez-Cymering C, Balistreri M, Realdon S, Battaglia G, Souza R, Odze RD, Zaninotto G, Croce CM, Rugge M, Facq M. MicroRNA Expression Profiling in the Histological Subtypes of Barrett's Metaplasia. *Clin Transl Gastroenterol* 2013; 4: e34 [PMID: 23677165 DOI: 10.1038/ctg.2013.5]
 - 66 Revilla-Nuin B, Parrilla P, Lozano JJ, de Haro LF, Ortiz A, Martínez C, Munitiz V, de Angulo DR, Bermejo J, Molina J, Cayuela ML, Yélamos J. Predictive value of MicroRNAs in the progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma in a long-term follow-up study. *Ann Surg* 2013; 257: 886-893 [PMID: 23059500 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31826ddb6a]
 - 67 Streppel MM, Pai S, Campbell NR, Hu C, Yabuuchi S, Canto MI, Wang JS, Montgomery EA, Maitra A. MicroRNA 223 is upregulated in the multistep progression of Barrett's esophagus and modulates sensitivity to chemotherapy by targeting PARP1. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 4067-4078 [PMID: 23757351 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0601]
 - 68 Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MA, Huang M, Wang KK, Hawk E. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 196-205 [PMID: 23466817 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0276]
 - 69 van Baal JW, Verbeek RE, Bus P, Fassan M, Souza RF, Rugge M, ten Kate FJ, Vlegaar FP, Siersema PD. microRNA-145 in Barrett's oesophagus: regulating BMP4 signalling via GATA6. *Gut* 2013; 62: 664-675 [PMID: 22504665 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301061]
 - 70 Matsuzaki J, Suzuki H, Tsugawa H, Watanabe M, Hossain S, Arai E, Saito Y, Sekine S, Akaike T, Kanai Y, Mukaisho K, Auwerx J, Hibi T. Bile Acids Increase Levels of MicroRNAs 221 and 222, Leading to Degradation of CDX2 During Esophageal Carcinogenesis. *Gastroenterology* 2013; 145: 1300-1311 [PMID: 23933602 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.08.008]

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃食管反流病的中西医发病机制及临床研究进展

王瀛峰, 张继全, 吴飞, 阮克锋

王瀛峰, 张继全, 吴飞, 阮克锋, 上海中医药大学中药现代制剂技术教育部工程研究中心 上海张江中药现代制剂技术工程研究中心 上海市 201203
王瀛峰, 在读研究生, 主要从事中药新药开发与中药制剂学的研究。

上海市科委中药科技支撑基金资助项目, No. 13401900305
作者贡献分布: 本文综述由王瀛峰与吴飞完成; 张继全与阮克锋共同负责审校。

通讯作者: 阮克锋, 教授级高级工程师, 硕士生导师, 201203, 上海市浦东新区张江高科技区蔡伦路781号B509, 上海中医药大学中药现代制剂技术教育部工程研究中心. ruankf@126.com
电话: 021-51322491

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-27

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-12-08

Update on the pathogenesis and clinical treatment of gastroesophageal reflux disease

Ying-Feng Wang, Ji-Quan Zhang, Fei Wu, Ke-Feng Ruan

Ying-Feng Wang, Ji-Quan Zhang, Fei Wu, Ke-Feng Ruan, Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine; Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine of Zhangjiang, Shanghai, Shanghai 201203, China
Supported by: the Foundation of Shanghai Technical Committee Science and Technology Department, No. 13401900305

Correspondence to: Ke-Feng Ruan, Professor of Engineering, Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, B509 781 Cailun Road, Zhangjiang Hi-Tech Pudong District, Shanghai 201203, China. ruankf@126.com
Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-27
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-12-08

Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is a clinically common chronic disease which seriously lowers patient's quality of life. Despite many studies on GERD, there has been no consensus regarding its pathogenesis. Various treatments have been developed and used for clinical purposes based on the traditional Chinese and Western medicine theories. This paper summarizes the recent progress in understanding the pathogenesis and clinical treatment of GERD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Pathogenesis; Clinical treatment

Wang YF, Zhang JQ, Wu F, Ruan KF. Update on the pathogenesis and clinical treatment of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3821-3827 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3821.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3821>

摘要

胃食管反流是一种高发慢性疾病,严重影响患者的生活质量。胃食管反流病的发病机制研究较多,国内外根据中西医理论制定了各种临床治疗方案,本文对近几年胃食管反流病的发病机制研究和临床治疗进展进行综述。

© 2013版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃食管反流病; 发病机制; 临床治疗

核心提示: 西医认为胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)的发病是由于下食管括约肌松弛、黏膜屏障受损和胃酸反流,治疗以抑制胃酸分泌、增加胃动力和保护胃黏膜为主; 中医对病因病机辨证分型并对症施治。中西医结合治疗结合二者优势,改善发病症状和提高治愈率。

王瀛峰, 张继全, 吴飞, 阮克锋. 胃食管反流病的中西医发病机制及临床研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(34): 3821-3827 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3821.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3821>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃、十二指肠内容物因各种诱因反流入食管引起烧心、反酸、呃逆等为主要症状的临床综合征。GERD包括非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD), 糜烂性食管炎(reflux esophagitis, RE)和Barrett食管(Barrett esophagitis, BE)三型^[1]。如果不能有效控制症状,

■背景资料

胃食管反流病临床高发,目前的治疗尚无突破性的进展,西医主要针对质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)等攻击因子作为主要的治疗靶点,但停止治疗后病情易复发;而中医多针对某一症状治疗起效较缓;中西医结合疗法可以产生较好的效果。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■ 研发前沿

通过西药迅速改善胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)患者反酸、烧心等症状,并通过中药的作用有效增加彻底治愈率的中西医结合治疗方案是目前研究的重点。

胃食管反流可以进一步影响食管、咽喉、肺等器官,发展成糜烂性食管炎、哮喘、Barrett食管,甚至食管腺癌等病症^[2,3]。其伴发的食管外症状多为胸骨后灼痛、咽部不适、哮喘等症状,并可导致食管炎或咽、喉、气道等食管以外的组织损害。

目前胃食管反流病临床高发,严重影响了患者的生活质量。对其发病机制研究较多,西医认为其发病主要是由于食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)松弛、胃黏膜受损和胃酸分泌过多等,中医认为其病机在于脾胃,属于胃失和降的体现。与之相应的中西医临床治疗方案的探索也属于临床热点。

1 发病趋势

胃食管反流病是临床上的常见多发疾病,发病率随年龄的增长而升高,40岁以上患病率增加,尤其是老年人常伴有严重的并发症^[4],男女发病无明显差异,但是男性食管炎和Barrett食管发病率明显增高。不同地区GERD的发病率不同,根据发病症状进行统计分析,西方国家GERD发病率很高,达10%-20%^[1];亚洲大部分地区GERD患病率低于5%^[1],多为轻度患者,以NERD为主,占总GERD发病率的50%-70%^[1]。我国的流行病学资料显示:GERD发病率一般在2.0%-6.2%^[2],RE和BE的检出率在逐年增加。

胃食管反流病还与一系列其他病有显著地相关性。近年来研究表明,BE与食管腺癌发病风险的升高密切相关,在患GERD超过10年的患者中,BE的检出率明显增加。BE可发展为低、高级别上皮内瘤、黏膜内癌和浸润性癌,因而在临床上引起了高度关注^[2]。

2 西医对其发病机制研究及临床治疗

2.1 西医理论对其发病机制的研究 正常情况下食管有防御胃酸及十二指肠内容物侵袭的功能,包括抗反流屏障、食管廓清功能及食管黏膜组织抵抗力。现代医学认为,GERD是由多种因素造成的消化系动力障碍性疾病。GERD发病是食管对胃、十二指肠内容物反流的防御机制下降和攻击因素如酸、胃蛋白酶、胆盐和胰酶等对食管黏膜攻击作用的结果^[5]。GERD的发病机制一般包括:食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)压力降低、一过性食管下端括约肌松弛(transient LES relaxation, TLESR)、食管裂孔疝、食管廓清功能减低、食管黏膜屏障受损致

其防御功能下降、胃十二指肠功能异常、食管内脏高敏感以及胃酸、胃蛋白酶和十二指肠反流物的攻击作用等^[3-7]。

胃食管反流的主要机制被认为是不恰当的LES松弛^[4,8],胃底的扩张增加一过性下食管括约肌的松弛频率。目前认为,TLESR是引起胃食管反流的主要原因。50%以上内镜检查阴性的GERD患者,其反流原因是频繁发生TLESR^[5]。谢鹏雁等^[9]研究发现胃食管反流可以发生在由食管扩张引起的LES松弛期内;对于快速食管扩张,单独的LES松弛伴随反流的百分比显著高于伴有继发蠕动的LES松弛时出现的胃食管反流情况。通过探讨新生儿胃食管反流的发病机制,病理性反流组食管下括约肌压力(LES pressure, LESP)和屏障压显著低于对照组,提示新生儿GERD的发生不单是LESP降低这一因素,还可能与短暂LES松弛有关^[10]。

食管黏膜屏障受损也可能导致胃食管反流。张黎明等^[11]研究反流性食管炎与NERD超微结构的特点,发现胃食管反流患者均存在不同程度细胞间隙增宽,提示细胞间隙增宽导致的食管通透性增加,可能导致NERD患者对生理性酸反流的高敏感性。程静等^[12]探讨GERD患者食管黏膜组织中的Ki-67、Caspase3的表达,发现其在一定程度上反映了食管黏膜鳞状上皮细胞的增殖程度,Ki-67和Caspase3可能同时参与了食管癌的发生。谢勇等^[13]探讨内源性NO在反流性食管炎黏膜炎症和损伤中的作用,研究提示内源性NO不但参与了LES压力的调节,而且在反流性食管炎的黏膜炎症和损伤过程中起着重要作用。邹红等^[14]探讨胃内pH值与胃食管反流的关系及胃食管反流的病理生理机制,发现当胃内pH值在1-2之间时,食管炎、食管溃疡的胃食管酸反流最为明显,食管黏膜损伤的严重程度与食管接触酸的次数及接触酸的时间长短有关。

胃食管反流是综合因素所造成。张东威等^[15]研究新生哺乳动物造成胃食管反流的各种因素及其演变,证实胃食管反流是综合因素所造成,其中胃蠕动缓慢、排空障碍是造成反流的主要因素,而胃食管的防反流机制是综合协调完成的,其中幽门十二指肠协调运动与食管清除蠕动起主要作用。

此外,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤的发病密切相关,而与反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的关系尚

不明确, 研究结果存在较大分歧。戴梦玲等^[16]研究 *H. pylori* 定植部位与 RE 的关系, 结果胃内不同定植部位 *H. pylori* 感染在 RE 中的作用不同, 胃体部 *H. pylori* 阳性者 RE 程度较轻, 而行抗 *H. pylori* 治疗可能影响 RE 的短期疗效, 推论可能由于定植在胃体部 *H. pylori* 抑制了壁细胞功能, 使胃酸分泌下降, 对食管黏膜的损害较轻, 而定植在胃窦部的 *H. pylori* 因促进胃酸分泌, 加重了食管黏膜的损害。高炳霞等^[17]研究发现 *H. pylori* 感染的部位和程度对胃内酸度及食管酸暴露的程度亦有显著影响, 弥漫性萎缩性胃炎可能对 RE 的发生有一定的保护作用。同时也有研究报道, 随 *H. pylori* 感染率的逐渐下降, GERD 和食管腺癌的发病率却明显上升^[18]。

2.2 西药临床治疗 目前西医对本病的治疗主要有抑制胃酸分泌, 增强下食管括约肌功能, 促进食管及胃的排空能力以及强化食管黏膜的防御机能等几种思路。

2.2.1 抑制胃酸分泌: 质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)是一类通过消耗 ATP, 抑制 H^+/K^+ 交换从而发挥抑制胃酸, 进而保护胃黏膜作用的经典药物, 为临床首选治疗胃食管反流病的药物^[8]。张吉翔等^[19]检索相关探讨质子泵抑制剂对胃食管反流性咽喉炎治疗作用的文献, 进行 Meta 分析, 得出质子泵抑制剂对胃食管反流性咽喉炎的治疗作用较对照组明显。奥美拉唑能够有效抑制胃酸分泌, 从而提高胃食管反流病的治愈率^[20,21]; 作为新型质子泵抑制剂, 兰索拉唑^[22]治疗 GERD 疗效肯定, 优于奥美拉唑, 其抑制胃酸作用强且持续时间长, 除能抑制胃酸分泌外, 对胃蛋白酶也有轻到中度的抑制作用。

2.2.2 增强胃肠动力, 促进胃肠排空: 外周性多巴胺受体拮抗剂多潘立酮减轻外周多巴胺受体对消化系的抑制, 促进胃内容物的排空, 减少胃内压, 增强食管蠕动和下部括约肌张力, 减少胃内容物反流^[23]。胃肠促动力药物莫沙必利, 是强效选择性胃肠 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)4 受体激动剂, 通过兴奋胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛的 5-HT4 受体, 促进乙酰胆碱的释放, 从而增强胃肠道运动, 防止胃内容物反流入食管, 增强食管的清除作用; 还可以增加胃和十二指肠收缩, 促进胃和十二指肠的排空, 能有效防止胃酸、胃蛋白酶及胆汁反流, 从而达到减少酸性胃内容物食管反流及减少其在食管的暴露时间, 加强食管抗反流屏障作用; 还可以降低食管对腔内机械刺激的敏感性, 有效

改善症状, 并促进损伤黏膜愈合^[24]。

2.2.3 保护胃黏膜: 通过中和胃酸, 吸附胃内胆汁酸及胃蛋白酶, 从而强化食管黏膜的防御机能。黏膜保护剂一般不单独用药, 而作为治疗 GERD 的辅助用药。

2.2.4 西药联合用药治疗: 使用单一药物对于一些顽固性 GERD, 很难满足其治疗效果, 因此多药联合使用, 通过增强下食管括约肌功能, 促进食管及胃的排空能力及强化食管黏膜的防御机能等来实现治愈 GERD 的目的。

抑制胃酸与增强胃肠动力剂经常联用。李海泓^[25]考察奥美拉唑联合多潘立酮治疗 GERD 的疗效, 发现奥美拉唑联合多潘立酮治疗 GERD 的疗效明显优于单用奥美拉唑, 能迅速改善临床症状, 内镜下愈合率高, 复发率低, 安全性较好。肖菲等^[26]评价 PPI 联合促胃动力药对胃食管反流相关性咳嗽的疗效, 对照组服用奥美拉唑, 试验组在对照组的基础上加用多潘立酮, 结果 PPI 联合促胃动力药对胃食管反流相关性咳嗽的疗效优于单独使用 PPI。吴高珏等^[27]以 PPI-埃索美拉唑(耐信)联合促胃动力药物多潘立酮或体表胃肠起搏对胃食管反流病合并胃排空障碍的疗效研究, 发现予耐信联合多潘立酮或体表胃肠起搏, 症状评分及食管炎的改善优于单用耐信治疗; 且耐信联合胃肠起搏者比联合多潘立酮治疗者首次复发时间延迟。

抑酸、促胃肠动力与黏膜保护剂联用即是所谓的“三联疗法”。埃索美拉唑是奥美拉唑的 S-异构体, 为壁细胞中质子泵的特异性抑制剂。莫沙比利是促胃肠动力药, 为高选择性 5-HT4 受体激动剂, 通过激活胃肠道的胆碱能中间神经元及肌间神经丛的 5-HT4 受体, 使之释放乙酰胆碱, 产生上消化系促动力作用, 从而增强全胃肠动力, 加速胃肠排空, 还能直接提高食管下端括约肌张力, 能有效防止胃酸、胃蛋白酶及胆汁反流。铝镁加混悬液是一种黏膜保护剂, 不但能中和胃酸, 还能可逆性地吸附胃内胆汁酸及胃蛋白酶, 从而强化食管黏膜的防御机能^[28]。李仲启等^[29]观察埃索美拉唑、莫沙比利联合铝镁加治疗难治性胃食管反流病的临床疗效, 对照组口服埃索美拉唑、莫沙比利治疗, 治疗组在对照组治疗基础上加服铝镁加混悬液, 发现治疗组能更有效缓解症状及治愈或减轻胃镜下黏膜炎症。

3 中医药对其发病机制研究及临床治疗

3.1 中医理论对其发病机制的研究 中医认为, 胃

■相关报道

GERD 的根治将是 GERD 治疗的必然前景, 随着分子生物学和基因定性、定位等技术的发展, GERD 的成因、发生和发展规律将得以明了, 届时 GERD 的预防和治疗模式将是 GERD 基因排查、高危人群定期普查、诱引因素的消除等多极方式, 最终病因消除将是 GERD 的终极结果。

■创新盘点

对中西医在分别治疗胃食管反流病的发病机制、治疗手段及中西医结合治疗进行了全面的比较,显现出中西医结合治疗的优势,指明了胃食管反流病有效治疗乃至彻底治愈的方向。

食管反流病涉及中医学“吐酸”、“嘈杂”、“胸痹”、“梅核气”等范畴。对本病的病因病机的研究,古代文献与现代文献的认识基本一致。《灵枢·四时气篇》云:“邪在胆,逆在胃。”张景岳在《景岳全书·吞酸》中“腹满少,吐涎呕恶,吞酸噯气,谗语多思者,病在脾胃。”因此,本病的病位在脾胃,与肝胆关系密切。《素问·六元正气大论篇》中提出:“木郁之发,民病胃脘当心而痛。”提示木郁土虚,胃失和降是本病病机的关键^[30]。现代医家谭万初等^[31]根据陈无择《三因极一病证方论·胸痞证治》篇,将其定为“胸痞”,认为其基本的病机应是胃气挟热上逆,病因常见有酒食所伤、情志失调和脾胃虚弱。李敬华等^[32]认为本病病机关键为胃失和降、浊气上逆,其发生原因有暴饮暴食、平素急躁或抑郁、素体羸弱。赵慧等^[33]通过总结现代中医名家专著及各文献报道中GERD的中医辨证分型,在GERD的14个证型中,肝胃郁热证、肝胃不和证、脾胃虚弱证及痰气郁阻证为临床上常见的4大证型。

3.2 中医临床治疗 对于GERD治疗,中医重视分型证治,与西医对症治疗但是易于复发的特点相比,中医治疗往往通过辨证施治,从病因、病位、病机等多方面把握疾病的特征^[33]。

汪荫华根据前人论述,结合自己的临床实践,将本病的病因大致归纳为饮食不节、情志失调、劳力所伤、体质虚弱,并将本病分为肝胃不和证、肝胆胃郁热证、气郁痰阻证、寒热错杂证、气滞血瘀证、脾虚气逆证、胃阴不足证等7种证型,据证施治,比如肝胃不和证用柴胡疏肝散加减,使疏肝理气,和胃降逆;肝胆胃郁热证用左金丸合化肝煎加减,使泄肝利胆,和胃降逆;气郁痰阻证用旋覆半夏汤加减,使理气解郁,化痰散结等^[34]。唐旭东认为GERD发病的根本病机在于胃失和降,不降反逆,治疗上以“通降法”为核心才是切中病机,通降法主要以行气降胃为根本,根据临证特点辅以他法^[32]。何占德等^[35]总结多年来中医药辨治胃食管反流病方法,认为胃食管反流病病机与“郁热内蕴”、“胃气上逆”等有关,病位在胃与食管,涉及到肝胆脾。临证分为肝胃郁热、胆热犯胃、气滞血瘀、中虚气逆、胃阴亏虚五型进行辨证论治,结合自制中药糊吞服,疗效颇佳。刁迎梅^[36]结合多年临床诊治实践经验,依据中医理论,将GERD临床表现分为“肝胃不和证、脾胃湿热证、痰气郁结胸膈证、脾胃虚寒证”四

证进行辨证治疗,对肝胃不和证采用疏肝和胃;脾胃湿热证用芳香化湿,清热和降;痰气郁结胸膈证用理气开胸,化痰利咽;脾胃虚寒证采用益气健脾,和胃降逆,在长期临床诊疗观察中,均取得满意的疗效。马新英等^[37]经过多年的临床观察与实践,认为肝脾的功能在整个疾病的发生、发展及治疗过程中起决定性作用,提出了以肝脾为中心辨证分型治疗。覃婧^[38]通过数则病案,探讨从《伤寒论》三阴病角度诊治本病的疗效,多方合用使清上温下,辛开苦降,寒热并用,攻补兼施,散中有收,收中有散,取得良好疗效。

殷利娜^[39]采用半夏泻心汤加味治疗胃食管反流病60例,总有效率93.33%,半夏泻心汤治疗胃食管反流病有辛开苦降,平调寒热,降逆和胃,补脾益气的疗效。秦嫣等^[40]选择60例经内镜检查及中医辨证确诊为肝胃郁热型的反流性食管炎患者,分为中药治疗组(和中平逆方)、西药对照组(奥美拉唑肠溶胶囊),结果和中平逆方对反流性食管炎的症状、食管黏膜炎症改善均有明显疗效,且其疗效优于奥美拉唑。张琳等^[41]将80例患者随机分为治疗组和对照组,分别采用随证加减的健脾降逆方、雷贝拉唑治疗,结果治疗组总有效率、反流性疾病问卷(reflux diagnostic questionnaire, RDQ)总积分以及治疗前后症状发作频率积分均优于对照组。万娉娉^[42]对胃食管反流病患者治疗组予疏肝降逆汤,对照组予以埃索美拉唑、吗丁啉,结果治疗组在临床疗效及胃镜下食管黏膜炎症改善情况明显优于对照组。徐国峰等^[43]观察柴夏汤对比雷尼替丁与硫糖铝联用对反流性食管炎的临床疗效,结果柴夏汤和雷尼替丁、硫糖铝治疗反流性食管炎疗效相似,但其不良反应发生率和复发率更低。郭湘丽等^[44]观察针刺配合滋阴降气汤对反流性食管炎患者血浆胃动素水平的影响,针药结合治疗组采用针刺和滋阴降气汤,中药组服用滋阴降气汤,西药对照组采用奥美拉唑肠溶胶囊口服,结果针药结合治疗组血浆胃动素水平明显高于西药对照组和中药组,提示针药综合疗法可显著提高RE患者血浆MOT水平,调节胃-食管运动,增加LES,防止食物反流。

4 中西医结合临床治疗

目前西医对GERD的治疗主要以质子泵抑制剂抑制胃酸分泌为主,但长期抑酸有可能导致不良后果,停药后易复发,出现症状重叠现象时无明确治疗方案等。同样中药或中成药往往没有

明显的抑制胃酸和黏膜保护作用, 因此, 在利用西药针对性治疗的同时, 结合中医药治疗, 可降低GERD复发率, 减少PPI依赖, 提高临床疗效和患者的生活质量。

4.1 抑制胃酸药与中药的联合治疗 刘畅^[45]将86例胃食管反流病患者随机分为2组, 均给予奥美拉唑常规治疗, 治疗组在此基础上加用清胃降逆汤加减治疗, 结果治疗组临床症状改善、胃镜疗效均明显优于对照组。陈卫军等^[46]观察和胃降逆胶囊治疗GERD的临床效果, 将120例患者随机分为对照组予以奥美拉唑, 治疗组在对照组基础上加用胃降逆胶囊, 其疗效优于单一西药治疗。潘霜等^[47]观察半夏泻心汤联合埃索美拉唑治疗胃食管反流病的临床疗效, 结果中西医结合组临床症状缓解和内镜下食道黏膜恢复均优于中药组和西药组。

4.2 西药联合疗法与中药的联合治疗 在与西药联合疗法配合使用治疗GERD的过程中, 降逆汤、化肝煎、四逆散、左金丸、达立通颗粒及一些民族药物均被应用, 效果显著。陈欣童等^[48]将120例患者随机分成中药治疗组(降逆汤)、西药治疗组(奥美拉唑及吗丁啉)和中西医结合治疗组(奥美拉唑+吗丁啉+中药降逆汤), 观察各组疗效及其对胃动素、胃泌素的影响, 结果奥美拉唑及吗丁啉+中药降逆汤是治疗反流性食管炎的有效药物, 中西医结合疗法可进一步提高对反流性食管炎的疗效, 促进胃肠道的动力。孙汉屏^[49]观察化肝煎为主配合西药治疗胃食管反流病的临床疗效, 对照组服奥美拉唑、多潘立酮, 治疗组在此基础上口服化肝煎, 结果胃镜下疗效, 症状改善及1年复发率, 治疗组优于对照组。陶琳等^[50]将96例胃食管反流病患者随机分为3组, 中西药联合组服用四逆散合左金丸及雷贝拉唑; 西药组单用雷贝拉唑; 西药联合组服用铝碳酸镁及雷贝拉唑, 观察各组患者治疗前后烧心、胸骨后疼痛、反酸、反食、咽部不适等症状的变化, 结果中西药联合组在症状改善、停药抗复发方面等总体疗效优于西药组。魏晓等^[51]观察左金丸加味联合西药治疗GERD临床疗效, 对照组给予口服兰索拉唑片及马来酸曲美布汀片治疗, 治疗组在服用上述西药基础上配合左金丸加味治疗, 结果中西医结合组治疗胃食管反流病疗效明显优于西药组。张庆等^[52]探讨中药达立通颗粒联合质子泵抑制剂治疗GERD临床疗效, 随机分为PPI组、PPI联合多潘立酮片组、PPI联合中药达立通颗粒组, 结果达

立通颗粒联合PPI在患者改善自觉症状、局部病变方面明显优于单纯使用PPI及PPI联合一般促胃肠动力药物, 且未见明显不良反应, PPI能有效改善GERD典型症状, 达立通颗粒能促进胃肠排空, 减少反流, 两者联合使用能安全、有效地改善GERD症状。李海强等^[53]观察贺州土瑶整脊疗法联合烫熨疗法治疗胃食管反流病的临床疗效, 对照组常规服用多潘立酮及兰索拉唑, 治疗组在常规治疗基础上加用贺州土瑶整脊疗法联合烫熨疗法, 结果常规治疗基础上加用贺州土瑶整脊疗法联合烫熨疗法在胃食管反流病的治疗上可明显改善临床症状及胃镜下表现, 提高综合治疗的疗效。

5 其他因素在GERD发病机制和治疗中的研究

有研究发现, 胃食管反流病患者父母患病机会增加, 同卵孪生个体同时患胃食管反流病的机会大于异卵孪生个体, 提示遗传因素在胃食管反流病的发病中起作用^[6]。另外有发现, 不健康的生活方式、高脂高糖的饮食习惯均可能影响GERD的发生与进展, 通过改变生活习惯, 与运动饮食或手术控制BMI指数, 能够显著改善GERD症状及临床内镜表现^[54-56]。

新近研究表明, 精神心理因素在NERD发病中的作用逐渐被人们所重视, 缪海江^[57]探讨PPI联合抗抑郁药黛力新治疗非糜烂性胃食管反流病临床疗效, 进而揭示酸分泌异常和精神因素在NERD发病中的作用, NERD患者在PPI标准治疗基础上加用抗抑郁药能显著改善精神和躯体两方面的症状。Zhong等^[58]观察耐信(埃索美拉唑)和黛力新治疗伴有抑郁或焦虑的NERD的疗效, 发现两药合用可更快缓解症状, 提示抑郁或焦虑状态对NERD的发生发展有一定作用。李燕^[59]选择采用三联疗法(奥美拉唑、莫沙必利及硫糖铝)治疗胃食管反流病患者, 对照组采用常规的护理方法, 干预组在治疗过程中进行包括心理护理、生活护理、饮食护理、健康指导在内的综合性护理干预, 同时进行腹式呼吸训练, 并对两组的临床疗效和恢复情况进行比较, 结果干预护理对治疗的顺利完成有着积极的促进作用, 可以提高治疗的效果, 使患者在治疗后出现复发的几率大大降低。

6 结论

鉴于GERD目前临床高发的特性, 对胃食管反流发病机制的研究还有待进一步深入。虽然GERD

■应用要点

中西医联合治疗在改善发病症状和彻底治愈方面的表现良好, 不仅可以迅速改善GERD患者反酸、烧心的症状, 而且通过中药的作用有效增加彻底治愈率。

■名词解释

一过性食管下括约肌松弛 (TLESR): 指非吞咽情况下LES自发松弛, 其松弛时间明显长于吞咽时LES松弛的时间。

是胃肠动力障碍性疾病, 但对GERD的治疗尚无突破性的进展, 目前仍然以针对其攻击因子, 尤其是PPI作为其主要的治疗手段, 但抑酸治疗并不能改变引起反流的低张力LES功能, 不能恢复食管动力功能, 停止抑酸治疗后, 多数病例病情复发。

西药在治疗GERD表现出的劣势是显而易见的。而中西药联合治疗在改善发病症状和彻底治愈方面的表现良好, 不仅仅可以通过西药迅速改善GERD患者反酸、烧心的症状, 而且通过中药的作用有效增加彻底治愈率, 我们认为未来的治疗应主要依靠中医中药, 或者是在西药配合下的中西药联合治疗。目前有学者提出: 随着分子生物学和基因定性、定位等技术的发展, GERD的成因、发生和发展规律将得以明了, 届时GERD的预防和治疗模式将是GERD基因排查、高危人群定期普查、诱引因素的消除等多极方式, 最终病因消除将是GERD的终极结果^[60]。

7 参考文献

- 1 李鹏, 张澍田. 胃食管反流病的流行病学研究和危险因素分析. 北京中医药 2008; 27: 169-170
- 2 危北海. 胃食管反流病中西医结合治疗的现状和展望. 北京中医药 2008; 27: 163-164
- 3 马克. 胃食管反流病知多少. 糖尿病天地·临床刊 2011; 5: 88-95
- 4 Chait MM. Gastroesophageal reflux disease: Important considerations for the older patients. *World J Gastrointest Endosc* 2010; 2: 388-396 [PMID: 21191512 DOI: 10.4253/wjge.v2.i12.388]
- 5 尹霞. 胃食管反流病的病因和发病机制探讨. 中国误诊学杂志 2009; 9: 2110-2111
- 6 张澍田. 胃食管反流病的发病机制. 北京中医药 2008; 27: 165-166
- 7 郑洁. 胃食管反流病. 中国水电医学 2003; 3: 191-192
- 8 Herbelli FA, Patti MG. Gastroesophageal reflux disease: From pathophysiology to treatment. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3745-3749 [PMID: 20698035 DOI: 10.3748/wjg.v16.i30.3745]
- 9 谢鹏雁, Eytan Bardan, Junlong Ren, Walter J Hogan, Reza Shaker. 食管扩张——一种胃食管反流触发机制. 北京医科大学学报 2000; 32: 121-124
- 10 江米足, 沈健, 欧弼悠, 陈肖肖, 汪洁, 孙眉月, 叶端云, 洪文澜. 新生儿胃食管反流发病机制的研究. 中华儿科杂志 1997; 35: 420-423
- 11 张黎明, 刘玉兰, 谢大赫, 倪鹏燕. 反流性食管炎及非糜烂性胃食管反流病超微结构比较. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 344-346
- 12 程静, 陈莹, 王琛, 许树长. 胃食管反流病患者食管粘膜 Ki-67 及 Caspase3 的表达. 同济大学学报 2012; 33: 48-52
- 13 谢勇, 周小江, 吕农华, 黄德强, 陈江, 黄缘, 王崇文, 祝金泉, 张昆和. 内源性一氧化氮在反流性食管炎黏膜炎症损伤中的作用. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1213-1214
- 14 邹红, 林华, 田淑芝, 赵景涛. 食管炎、食管溃疡和 Barrett's 食管的胃-食管反流与胃内 pH 值的关系. 北京医学 2004; 26: 229-231
- 15 张东威, 李心元, 陈立天, 刘鑫, 潘恩源, 肖福大. 胃食

管反流动物模型及其病理生理演变的研究. 中华小儿外科杂志 2001; 22: 112-114

- 16 戴梦玲, 洪捷敏. 幽门螺杆菌定植部位与反流性食管炎的关系. 现代实用医学 2007; 19: 730-731
- 17 高炳霞, 段丽萍, 王混, 夏志伟, 林三仁. 幽门螺杆菌感染及胃炎类型与反流性食管炎关系的研究. 中华医学杂志 2006; 86: 2674-2678
- 18 王善慧, 张敏, 张永涛. 反流性食管炎的细菌学研究. 中国现代医生 2009; 47: 12-15
- 19 张吉翔, 董卫国, 邱实, 艾明华, 王静. 质子泵抑制剂治疗胃食管反流性咽喉炎的 Meta 分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 834-840
- 20 鄂忠将. 奥美拉唑治疗胃食管反流病的疗效观察. 中国民族民间医药 2012; 22: 92
- 21 杨卓. 奥美拉唑治疗胃食管反流病临床疗效观察. 中国实用医药 2012; 7: 138-139
- 22 张树荣. 兰索拉唑治疗胃食管反流病的疗效观察. 中国医药科学 2012; 2: 57-60
- 23 郭建成, 谷成明. 多潘立酮的作用机制及临床应用新进展. 中华消化杂志 2001; 40: 58-61
- 24 朱琦, 刘文忠. 促动力药物在胃食管反流病治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 737-745
- 25 李海泓. 奥美拉唑联合多潘立酮治疗胃食管反流病 40 例. 中国药业 2012; 21: 65-66
- 26 肖菲, 张李群, 茅娟. 质子泵抑制剂联合促胃动力药治疗胃食管反流相关性咳嗽的研究. 胃肠病学 2011; 16: 99-102
- 27 吴高珏, 龚锺, 朱颖炜, 谭春晓. 改善胃排空障碍在治疗胃食管反流病中的作用. 南京医科大学学报 2012; 32: 1259-1262
- 28 梅海信, 张振华. 铝镁加混悬液辅助治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 中国现代医药杂志 2008; 10: 95-96
- 29 李仲启, 傅汉中, 王仲玉, 魏国强, 马正尧, 李彩霞. 埃索美拉唑、莫沙比利联合铝镁加治疗难治性胃食管反流病疗效观察. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 456-457
- 30 李黎. 胃食管反流病中医古代文献溯源. 环球中医药 2011; 4: 11-15
- 31 谭万初, 张磊. 中医对胃食管反流病的认识. 成都中医药大学学报 1998; 21: 11-12
- 32 李敬华, 胡建华, 张丽颖, 王凤云, 王萍, 卞立群, 唐旭东. 唐旭东通降法治疗胃食管反流病经验. 中医杂志 2012; 53: 1779-1780
- 33 赵慧, 叶柏. 胃食管反流病的中医证型研究概况. 贵阳中医学院学报 2011; 33: 75-78
- 34 潘存生. 汪荫华治疗胃食管反流病的经验与特色. 江苏中医药 2012; 44: 11-12
- 35 何占德, 陶春祥. 中医药治疗胃食管反流病. 陕西中医学院学报 2012; 35: 22-24
- 36 刁迎梅. 中医分型辨治胃食管反流病临床探微. 航空航天医学杂志 2011; 22: 639-640
- 37 马新英, 杨明会. 从肝脾论治胃食管反流病探析. 环球中医药 2011; 4: 351-353
- 38 覃婧. 从三阴病论治胃食管反流病. 河南中医 2012; 32: 1276-1277
- 39 殷利娜. 半夏泻心汤加味治疗胃食管反流病 60 例. 陕西中医 2012; 33: 1135-1136
- 40 秦嫣, 朱凌云, 刘晏, 范怀玲, 宋宏伟. 和中平逆方治疗肝胃郁热型反流性食管炎临床研究. 现代生物医学进展 2012; 13: 2511-2514
- 41 张琳, 汪红兵, 李乾构. 健脾降逆方加减治疗非糜烂性胃食管反流病的疗效观察. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 402-404
- 42 万娉婷. 自拟疏肝降逆汤治疗胃食管反流病 35 例. 实用中医内科杂志 2012; 9: 30-32
- 43 徐国峰, 王有鹏, 许燕春, 余绍源. 柴夏汤治疗反流性食管炎 67 例分析. 中医药学刊 2003; 21: 1200-1207

- 44 郭湘丽, 赵施竹, 赵正焱. 针刺配合滋阴降气汤对反流性食管炎患者血浆胃动素水平的影响. 云南中医药杂志 2010; 31: 20-21
- 45 刘畅. 清胃降逆汤治疗胃食管反流病疗效观察. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 3215-3216
- 46 陈卫军, 刘宏伟. 和胃降逆胶囊治疗胃食管反流病临床研究. 中医学报 2012; 27: 1185-1186
- 47 潘霜, 蓝青强. 半夏泻心汤联合埃索美拉唑治疗胃食管反流病的临床疗效观察. 辽宁中医杂志 2011; 38: 479-480
- 48 陈欣童, 黄晓军, 苏峥, 陈威. 奥美拉唑及吗丁啉加中药降逆汤治疗反流性食管炎临床对比观察. 中山大学学报 2004; 25: 165-183
- 49 孙汉屏. 化肝煎为主配合西药治疗胃食管反流病肝胃郁热型60例. 光明中医 2012; 27: 2053-2054
- 50 陶琳, 肖旻, 李帷, 张声生. 四逆散合左金丸联合雷贝拉唑治疗胃食管反流病36例. 北京中医药 2009; 28: 785-787
- 51 魏晓, 田丰华. 左金丸联合西药治疗胃食管反流病58例. 中国中医药现代远程教育 2012; 10: 45-46
- 52 张庆, 谭小平, 王卫政, 何长华. 中药达立通颗粒联合质子泵抑制剂治疗胃食管反流病疗效观察. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 464-467
- 53 李海强, 贝光明, 李彤, 张东琼, 韦刚, 罗昭芳, 王萍. 土瑶整脊疗法联合烫熨疗法对胃食管反流病的临床疗效观察. 中华中医药学刊 2012; 30: 2182-2184
- 54 Festi D, Scaoli E, Baldi F, Vestito A, Pasqui F, Di Biase AR, Colechia A. Body weight, lifestyle, dietary habits and gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1690-1701 [PMID: 19360912 DOI: 10.3748/wjg.15.1690]
- 55 Djärv T, Wikman A, Nordenstedt H, Johar A, Lagergren J, Lagergren P. Physical activity, obesity and gastroesophageal reflux disease in the general population. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3710-3714 [PMID: 22851863 DOI: 10.3748/wjg.v18.i28.3710]
- 56 Du J, Liu J, Zhang H, Yu CH, Li YM. Risk factors for gastroesophageal reflux disease, reflux esophagitis and non-erosive reflux disease among Chinese patients undergoing upper gastrointestinal endoscopic examination. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6009-6015 [PMID: 18023091 DOI: 10.3748/wjg.13.6009]
- 57 缪海江. 耐信结合黛力新治疗非糜烂性胃食管反流病临床观察. 中国医疗前沿 2011; 6: 30-31
- 58 Zhong YQ, Xu Z, Guo JN. Efficacy of esomeprazole and flupentixol and melitracen in treatment of non-erosive gastro esophageal reflux disease with depression and anxiety. *China Medical Abstracts (Internal Medicine)* 2006; 23: 218-219
- 59 李燕. 三联疗法治疗胃食管反流病的护理观察. 吉林医学 2012; 33: 6167-6169
- 60 陈可, 肖泽泉, 董玉媛. 胃食管反流病的治疗现状及展望. 医学信息 2011; 2: 695-696

■同行评价

本综述立题有依据, 收集文献较多较新, 内容集中, 观点明确, 文字简练有条理, 对胃食管反流的发病机制和防治研究有参考价值.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



重症急性胰腺炎合并胃肠功能障碍的机制研究及诊治现状

刘丽蕾, 王湘英

■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)病情凶险、并发症多,肠道是常见受损靶器官。SAP时胃肠功能的受损直接影响着患者的病情发展及预后,尽早恢复胃肠运动是阻止SAP病程危重演变的关键,早期肠功能恢复也为肠内营养提供条件,对提高SAP患者救治成功率,降低死亡率至关重要。因此改善SAP胃肠动力的重要性也越来越受到人们关注。

刘丽蕾, 南华大学 湖南省衡阳市 421001
王湘英, 湖南省人民医院重症监护室 湖南省长沙市 410005
刘丽蕾, 在读研究生, 主要从事重症监护及肝胆胰疾病的研究。
湖南省科技计划基金资助项目, No. 2012SK3242
作者贡献分布: 本综述由刘丽蕾完成; 王湘英审校。
通讯作者: 王湘英, 教授, 主任医师, 410005, 湖南省长沙市芙蓉区解放西路, 湖南省人民医院重症监护室。
1360252897@qq.com
电话: 0731-82278405
收稿日期: 2013-07-26 修回日期: 2013-09-11
接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-08

Severe acute pancreatitis complicated with gastrointestinal dysfunction: Pathogenesis, diagnosis and treatment

Li-Lei Liu, Xiang-Ying Wang

Li-Lei Liu, University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Xiang-Ying Wang, Department of Intensive Care Unit, Hunan Province People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China
Supported by: Hunan Provincial Science and Technology Program, No. 2012SK3242
Correspondence to: Xiang-Ying Wang, Professor, Chief Physician, Department of Intensive Care Unit, Hunan Province People's Hospital, West Road of Liberation, Furong District, Changsha 410005, Hunan Province, China. 1360252897@qq.com
Received: 2013-07-26 Revised: 2013-09-11
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-08

Abstract

Severe acute pancreatitis (SAP) is often associated with gastrointestinal dysfunction, leading to gastrointestinal motility disorders and even gastrointestinal failure, which has an important effect on SAP progression and prognosis, directly influences the outcome of treatment, is an important cause of death in patients with SAP, and moreover, has been one of the important prognostic factors for SAP. This review aims to discuss the pathophysiology, pathogenesis, diagnosis and treatment of SAP with gastrointestinal dysfunction.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Gastrointes-

tinal motility; Inflammatory factor; Gastrointestinal hormone; Pancreatitis associated ascites

Liu LL, Wang XY. Severe acute pancreatitis complicated with gastrointestinal dysfunction: Pathogenesis, diagnosis and treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3828-3834 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3828.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3828>

摘要

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)常合并胃肠功能紊乱,导致胃肠动力障碍,甚至引起胃肠功能衰竭,对SAP病程和预后有着重要的影响,是导致SAP患者死亡的重要原因,直接影响着重症急性胰腺炎本身的治疗效果和预后,为判定重症急性胰腺炎预后的重要指标之一。本文旨在通过文献复习总结SAP合并胃肠功能障碍的病理生理学变化、发病机制及当前的诊治进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 胃肠动力; 炎症因子; 胃肠激素; 胰腺炎相关性腹水

核心提示: 纠正肠道功能障碍是治疗重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的重要环节,对SAP的病程和预后有着重要影响。随着研究的深入,引起胃肠动力障碍的机制逐步阐明,为临床治疗提供了更多的新思路,其中研究最多的机制包括: 炎症因子、胃肠激素、一氧化氮、胰腺炎相关腹水。肠道功能障碍的早期诊断及合理治疗是改善急性胰腺炎预后的关键,临床上常采用多种方案联合治疗,从而减少并发症、改善患者的预后,提高SAP治愈率。

刘丽蕾, 王湘英. 重症急性胰腺炎合并胃肠功能障碍的机制研究及诊治现状. *世界华人消化杂志* 2013; 21(34): 3828-3834 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3828.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3828>

0 引言

胃肠道功能障碍被证实对重症患者的预后有着不利影响, Wilmore等^[1]提出“肠道发病的中心

■同行评议者
宋振顺, 教授, 西京医院肝胆外科

器官”学说,即胃肠功能障碍被认为是多脏器功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的原发因素,对病程和预后有着重要的影响。重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者常发生胃肠道功能障碍现象(包括胃肠动力障碍及胃肠黏膜屏障功能损害)。胃肠动力障碍早期表现为胃排空减慢、十二指肠运动迟缓和麻痹性肠梗阻等^[2]。既往多项研究证实SAP的严重程度及预后与早期胃肠功能障碍的程度密不可分,尽早恢复胃肠运动是阻止SAP病程向危重演变的关键^[3,4]。

1 病理生理学改变

肠道除了消化吸收营养功能外,还是一个独特的免疫器官,其免疫防御机制包括蠕动的驱除作用以及黏膜和黏液的机械屏障作用,肠道黏膜上还分布有丰富的sIgA、淋巴细胞等。其中,肠蠕动对维持胃肠道的微生态平衡起着核心作用。肠道动力障碍是促使SAP病情恶化及死亡的重要原因。一方面,SAP本身可导致高代谢及高动力状态,能量及蛋白质代谢消耗增加,若胃肠道不能充分消化并吸收食物,可导致严重营养不良;另一方面,胃肠蠕动减弱或消失,肠道细菌的过度繁殖造成菌群失调,肠道内细菌和毒素排泄障碍,加重胃肠道屏障功能损害,促使细菌的移位和毒素的吸收,形成菌血症。后者通过多个途径作用于肠道使肠的动力进一步降低,甚至发生中毒性肠麻痹,最终加速全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及MODS的发生^[5]。

2 SAP的发病机制

SAP发生胃肠动力障碍是多种因素综合作用的结果。一般说来,胃肠动力主要受神经和内分泌两方面调节。此外,炎症状态下免疫系统激活,释放大炎症介质,参与了胃肠动力障碍的发生、发展过程。胰腺、胰周或后腹膜炎症是疾病早期最明显的原因^[6,7]。对SAP合并胃肠动力障碍的研究有炎症介质、胃肠激素分泌紊乱、胰腺炎相关性腹水(pancreatitis associated ascitic fluid, PAAF)的影响、微循环障碍、消化系Cajal间质细胞缺失、神经肌肉系统功能改变等^[6-9]。现今研究最多的机制包括:炎症因子、胃肠激素、一氧化氮及胰腺炎相关腹水。

2.1 炎症因子 各种细胞因子相互影响产生级联反应,引起肠黏膜及细胞外基质的破坏,平滑肌

功能紊乱及肠肌丛神经元损伤,大量文献报道胃肠运动功能障碍与炎症细胞因子白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)密切相关。Hierholzer等^[7]报道,炎症细胞浸润小肠肌层后,伴随IL-6和粒细胞集落刺激因子(granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF)的产生,肠道运动功能减弱。Natale等^[8]发现给予大鼠IL-1、IL-6时可引起大鼠结肠黏膜离子转运参数变化、影响结肠运动的生理模式和传感反射,使神经传递发生改变,平滑肌直接的收缩反应减少,从而引起结肠运转功能障碍。耿东华等^[9]报道,急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)大鼠肠血流量减少与血清IL-1 β 的升高同步发生,IL-1 β 通过调控炎症介质引起血管痉挛、白细胞与血小板聚集、血栓形成以及损伤血管内皮细胞而加重肠缺血,造成细胞代谢障碍,ATP酶活性降低及肠黏膜结构破坏,此时肠黏膜上皮细胞再生减慢或停止,黏膜萎缩,绒毛坏死,上皮细胞与固有层分离或脱落,胃肠平滑机电生理紊乱。Ohama等^[10]证实IL-1 β 对肠道平滑肌收缩具有长期抑制效应,此种抑制效应是通过影响肌球蛋白磷酸酶的非催化亚基(myosine phosphatase targeting subunit 1, MYPT-1)及蛋白激酶C加强的磷酸酶抑制蛋白-17(protein kinase C-potentiated phosphatase inhibitor of 17 ku, CPI-17)的磷酸化水平来实现的。进一步的研究发现TNF- α 是介导IL-1 β 抑制CPI-17表达及磷酸化的关键因子,包括IL-1 β 在内的其他致炎因子均通过TNF- α 的上调来抑制胃肠道平滑肌收缩。TNF- α 和IL-1又引起一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性增强,产生能使平滑肌舒张的NO有效水平增加导致胃肠动力异常。

2.2 胃肠激素 胃肠激素是由胃肠道黏膜上散在分布的内分泌细胞分泌的高效能生物活性物质,是胃肠动力的主要调控因素,其主要功能是与神经系统一起通过旁分泌、自分泌、神经分泌等方式,共同作用于胃肠道的平滑肌细胞、神经细胞和内分泌细胞,调节消化器官的分泌、运动和吸收,使之成为一个协调的整体^[11,12]。胃肠激素的作用途径包括:通过血液循环以内分泌形式直接作用于胃肠平滑肌细胞相应受体参与调控;及经神经途径,以神经递质或神经调质形式作用于中枢神经系统或肠神经系统,参与调控。作用方式包括:(1)蠕动的调节;(2)消化间期移行性复合运动(migrating motor complex,

■研究前沿

SAP胃肠动力损伤机制尚不明确,是目前研究的热点。大量研究证实:炎症因子、胃肠激素、一氧化氮、胰腺炎相关腹水等因素在SAP胃肠动力障碍的发生、发展过程中起重要作用,随着研究的深入,引起胃肠动力障碍的机制逐步阐明,为临床治疗提供了更多的新思路。但具体到参与其中的细胞、分子及相互间的作用机制仍有许多不明确之处,有待深入地研究与探讨。

■相关报道

临床上SAP患者常合并腹胀和肠麻痹等胃肠动力障碍的症状,其并发症包括麻痹性梗阻、腹腔间隔室综合征、胃肠道屏障功能损害、肠道细菌移位和毒素吸收以及全身性炎症反应综合征和多器官功能衰竭综合征等,其早期诊断及合理治疗是改善急性胰腺炎预后的关键,临床上常采用多种方案联合治疗,从而减少并发症、改善患者的预后,提高SAP治愈率。

MMC)调节;(3)胃肠平滑肌活动调节;(4)胃肠括约肌调节^[13,14]。

Wang等^[15]发现胰腺炎患者全结肠及各节段结肠(主要是左和右半结肠)运输时间均较健康对照组明显延长,且两组中血清促胃动素(motilin, MTL)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)和胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)的浓度有显著差异,因此认为SAP患者常存在胃肠动力障碍,其机制可能是胃肠激素变化的综合效应导致全结肠转运过程减慢,最终发生胃肠动力紊乱。MTL是主要由十二指肠和近端小肠黏膜内的M细胞分泌,MTL可兴奋胃和小肠平滑肌细胞膜上的胃动素受体,收缩平滑肌。MTL还可通过神经途径起作用,最新研究证明,胃动素受体广泛表达于人十二指肠和结肠肠神经元,MTL可先作用于迷走神经上的受体,促进乙酰胆碱释放介导兴奋运动神经元,启动消化间期移行性复合运动(MMC)从而实现对胃肠道的各种生理活动的调节^[14]。血浆MTL在消化间期移行性复合运动中呈周期性变化,在MMCIII相出现峰值^[16]。将MTL灌注于清醒狗局部空肠动脉,可引起MMCIII相收缩,MTL抗血清可阻断这一作用^[17]。Jonsson等^[18]报道胃排空延迟患者,MMC III期减少或缺失;各时相血浆胃动素水平明显低于正常并缺乏胃动素分泌高峰。VIP主要由胰腺、肠道NANC神经元释放,存在于黏膜下及肌间神经丛,是抑制胃肠运动的主要神经递质之一,在胃肠道含量最高,具有松弛消化系括约肌、抑制胃排空、抑制小肠运动、参与胃放射性松弛和结肠扩张的作用^[19]。小剂量VIP能显著改善ANP大鼠肠微循环血量,降低血清TNF- α 、IL-1 β 水平,减轻肠黏膜损伤^[20];VIP浓度在500 pmol/(kg·min)以上可以明显抑制MMC,而VIP抗体能阻断电刺激和迷走神经反射所引起的胃肌条收缩;再次,VIP对胃肠动力的作用还涉及肠肌层和黏膜下层的神经元,导致纵行平滑肌收缩增加。VIP抑制胃肠动力的作用可能是通过刺激Ca²⁺的转运实现的^[21]。Wang等^[22]使用传统针灸方法可使急性胰腺炎患者结肠转运时间缩短,其机制与降低血浆VIP浓度有关。

另外,近10年来发现胃泌素、胆囊收缩素、内皮素、P物质及生长激素等胃肠道激素与胃肠道运动功能的紊乱密切相关,然而其具体机制尚不明确,还有待于深入研究探讨。

2.3 一氧化氮 近年来对NO的研究较引人注目,NO作为一种抑制性胃肠道非肾上腺非胆碱能

(non-adrenergic, non-cholinergic, NANC)神经元传递介质,在NOS介导下形成的,人体胃肠道组织中均有NOS的分布,在胃排空的肠壁机械感受器和化学感受器的反馈调控中发挥重要作用^[23]。过量的NO可上调cGMP水平,耗竭神经元细胞的能量储备,造成肌间神经、黏膜下神经元损伤,使消化系的神经支配作用出现异常。NO能神经的紊乱可能造成正常兴奋与抑制的失衡,导致胃肠动力异常,应用NOS抑制剂可消除压力诱导的胃容受性舒张,说明NO能诱导胃肠道舒张,抑制胃的运动^[24]。Wiest等^[25]证实高浓度NO可抑制ATP形成,促进氧自由基产生,增大肠上皮间隙,损害肌动蛋白骨架,导致胃肠收缩障碍及细菌移位。Barocelli等^[26]通过夹闭及再开放小鼠肠系膜上动脉造成肠道的缺血再灌注损伤,发现胃及小肠蠕动明显延长,同时伴随NO水平及中性粒细胞浸润显著上升。而*iNOS*基因敲除的小鼠及应用选择性*iNOS*抑制剂能预防缺血再灌注损伤引起的胃肠动力减慢。近年来的研究还进一步论证了NO对MMC的调控中也起到极其重要作用。现已发现神经型一氧化氮合酶(nNOS)在神经末梢中与VIP共存肌间神经丛和黏膜下神经丛,有学者认为神经活动中神经末梢释放的NO刺激VIP的释放,表明VIP的释放有赖于NO的形成^[19,24,26]。

2.4 胰腺炎相关腹水 在胆石症、酗酒、暴饮暴食等众多诱因介导下,胰腺分泌增加,同时十二指肠乳头括约肌痉挛,胰管内压增高致腺泡破裂,胰液溢出至腹腔,胰酶及其作用于组织细胞后的毒性产物释放入血,扩张内脏毛细血管并损伤毛细血管内皮细胞导致血管通透性增加而引起液体渗漏到组织间隙即毛细血管渗漏综合征(systemic capillary leakage syndrome, SCLS),血浆成分进入腹腔产生大量PAAF^[27]。腹水中含大量消化酶、血管活性物质、坏死组织及其崩解产物,一方面腹腔内炎性渗液积聚、胃肠道、腹膜进行性水肿导致麻痹性肠梗阻;另一方面这些毒性物质直接刺激肠系膜根部神经及胃肠道组织,加速肠上皮细胞凋亡,使胃肠黏膜通透性增加^[28]。同时作为外科应激的中心器官,消化系血流重新分布,肠系膜血管收缩加重肠壁缺血缺氧,恢复灌注后产生大量氧自由基,导致胃肠道缺血再灌注损伤,并产生更多的炎症介质,加重胃肠动力障碍及屏障破坏^[28,29]。PAAF还可导致腹内压(intra-abdominal pressure, IAP)急剧升高,甚至发生腹腔间室综合征(abdominal

compartment syndrome, ACS), 在腹腔内限制了肠道的运动导致肠内容物排出不畅, 使肠系膜动脉、肝动脉、小肠黏膜、肝脏微循环及门静脉血流均减少, 引起严重胃肠麻痹、肠动力障碍、肠梗阻并造成多器官系统的进一步损害^[30,31]. 导致临床上出现较剧烈的腹胀和腹痛症状, 引起肠黏膜屏障破坏及胃肠动力障碍. PAAF除了对细胞的直接毒性作用外, 还可干扰炎症反应的内源性调控机制. Wang等^[32]证实, TNF- α 和IL-6 mRNA在PAAF中过度表达, 且与腹水中溶质的浓度呈剂量依赖性, 表明PAAF通过干扰炎症反应和抗炎反应通路上调促炎因子, 加剧了急性炎症反应. Ramudo等^[33]认为, PAAF通过活化介导核因子- κ B参与了腺泡细胞TNF- α 的生产. PAAF中的TNF- α 、IL-1、IL-6还可作用于其血管内皮细胞, 使其血栓调节蛋白活性降低, 加重缺血和形成血栓, 还使炎症细胞激活和NO与氧自由基释放, 直接损伤肠黏膜. 方向等^[34]以PAAF诱导的SD大鼠肠损伤模型为研究对象, 观察到实验组血清LPS、TNF- α 、白细胞、呼吸频率(R)、肠系膜淋巴结的细菌移位率及肠黏膜损伤程度均较对照组增高, ATP酶活性显著降低, PAAF诱导的大鼠肠损伤明显. 刘殿刚等^[35]试验研究发现, PAAF直接作用于离体肠管, 可明显降低肠管的收缩幅度并抑制肠管的运动频率, 这种抑制强度与腹水所含溶质的浓度呈正相关.

另外, 神经、内分泌、炎症因子能相互作用: 促炎症介质与激素可双向调节, 常进行交叉对话, 一般情况下, 激素与前炎症介质处于恰当的平衡中. 当PAAF中的大量毒性物质吸收入血时他们之间的平衡被打破, 引起激素水平异常, 激素与炎症因子比率发生变化, 进而产生内分泌的抵抗, 进一步改变激素水平. 同时激素变化也可以改变炎症因子水平, 内环境稳态发生改变^[36].

3 临床诊断

临床工作者对胃肠动力障碍患者的早期诊断将有益于SAP患者的临床治疗, 提高SAP治愈率, 胃动力检测方法应尽可能合乎生理并具有非侵入性、无放射性、准确、可重复性好、容易操作、低成本等特点. 目前在临床上应用较多的方法如下.

3.1 临床症状观察 临床上, SAP患者发生胃肠功能障碍时, 可在原发病的基础上出现腹痛、腹胀、腹泻或便秘、肛门排气排便停止或减少、

下消化系出血等, 同时常伴有消化、吸收功能障碍, 可出现不能耐受肠内营养等症状.

3.2 体征监测 发生胃肠功能障碍的患者, 早期便可出现消化系体征如肠鸣音减弱或消失等. 杨广印等^[37]从药效学方面证实了肠鸣音与胃肠运动的相关性, 并认为肠鸣音是一种在自然条件下记录胃肠运动的可行办法. 肠鸣音听诊具有无创伤、操作简便、患者依从性好且不影响患者生理状况的优点, 是临床和科研上常用的检测胃肠动力的方法.

3.3 胃电描记 胃平滑肌始终存在电活动, 控制胃平滑肌的收缩和舒张, 了解胃电活动也是检查胃运动功能的主要方法. 50年代首次报道应用体表胃电记录技术, 即胃电图(electrogastrogram, EGG), 它是一种非侵入性检查方法, 因操作简单、准确性强、可重复性和已被接受而得到认可, 其操作是将电极放置在上腹体表, 记录空腹和餐后的胃电慢波活动变化.

3.4 胃肠传输试验 是应用于胃肠动力研究方面最经典的技术和方法. 目前是通过口服一定数量的造影剂或不显影的标志物后, 以不同时间消化系内标志物的残留数目或其半数排空时间反映胃肠排空情况^[38].

3.5 肠道气体定量分析 将研究对象数字化X线平片输入计算机, 用图像处理软件(photoshop7.0)在左右髂前上嵴垂直相交于第10胸椎下缘水平线连接线、耻骨联合上缘水平线形成的矩形框内, 标出肠内气体边缘, 计算气体容积积分(GVS), 即肠气范围像素点占整个矩形框像素点的比例. AP早期可通过GVS测定发现麻痹性肠梗阻现象: 胃、小肠、结肠充气, 甚至腹部呈广泛的透亮影, 能客观地对胃肠动力进行评估. 同时, 方便、快捷、费用低廉、非侵入性是其主要优点^[39].

同时, 还有超声检查、核素检查、胃肠测压、胶囊内镜、乳果糖呼氢试验, 然而这些方法还未广泛应用于临床.

4 胃肠功能衰竭评分

胃肠功能对胰腺炎的影响在既往的多项研究中已被证实, 然而对胃肠功能的评估尚缺乏一套完整的评分系统从而限制了其在临床研究中的发展, Sun等^[40]根据Reintam的危重患者的胃肠功能衰竭评分(gastrointestinal failure, GIF)^[4]为重症胰腺炎患者设计了一套改良的GIF(modified GIF, iGIF)(表1).

■创新盘点

本文通过从炎症因子、胃肠激素、一氧化氮、胰腺炎相关腹水等方面阐明SAP合并胃肠运动障碍的机制, 并就其诊断及目前广泛应用于临床的治疗方法加以综述, 对深入了解研究进展及指导临床寻找新的治疗方法具有现实意义.

应用要点

对SAP合并胃肠动力障碍机制提供了新的思路,并为SAP胃肠动力障碍的治疗提供了新的靶点。针对不同病情与病程的SAP患者,采用适当的方法,有效地改善胃肠动力,促进胃肠功能恢复,可在一定程度上阻止SAP病程进展。

表 1 改良的胃肠功能衰竭评分 (IGIF)

评分项目	0分	1分	2分
肠内营养不耐受(项) ¹	0	1-2	≥3
腹腔压力(mmHg)	<12	12-20	>20或腹腔室隔综合征
内毒素浓度(pg/mL)	<10	10-50	>50
CT发现	无	肠壁增厚或小肠扩张	肠壁增厚并小肠扩张

¹肠内营养不耐受,因呕吐、肠胀气、高的胃残余量、严重腹泻而无法进行肠内营养。

改良的GIF评分能更好地评估SAP患者的胃肠功能。另外, GIF评分、序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)评分及急性生理功能和慢性健康状况评分(acute physiology and chronic health evaluation- II, APACHE II)评分的结合应用比某个单独的评分系统能更有效地预测SAP的预后。

5 肠道功能障碍的治疗

临床发现胃肠道功能恢复越早的胰腺炎患者预后也越佳, 肠道功能障碍的合理治疗是改善急性胰腺炎预后的关键。

5.1 胃肠道促动力剂 (1)促进胃肠肌间神经丛乙酰胆碱释放的药物, 如西沙必利; (2)胆碱能拟似剂, 如贝胆碱; (3)多巴胺受体阻滞剂, 如吗丁啉、胃复安; (4)胆碱酯酶抑制剂, 如新斯的明; (5)胃动素受体激动剂, 如红霉素及其衍生物; (6)生长抑素及其类似物, 如奥曲肽。

5.2 针灸 针刺足三里等穴位可促进胃肠蠕动。王新宇等^[41]将94例急性胰腺炎患者, 分为电针治疗组56例和对照组38例, 结果显示电针能显著提高急性胰腺炎患者的胃肠动力, 但其改善急性胰腺炎胃肠动力紊乱的机制是否与对胃肠激素的调节有关尚不明确。

5.3 中药疗法 口服泻下性药物, 如硫酸镁、甘露醇及中药大黄、芒硝等(清胰汤的主要成分亦为大黄), 能明显促进胃肠蠕动, 是目前临床较常用的方法。使用上述药物灌肠后可促进结肠蠕动。侯冰宗等^[42]将36例SAP患者随机分为清胰汤灌肠组和对照组, 发现两组临床指标及血清MTL、CCK、VIP浓度变化相比较有显著性差异, 结果显示清胰汤保留灌肠治疗SAP疗效显著, 其作用机制可能与调节机体中胃肠激素(MTL、CCK、VIP)的水平有关。

5.4 补充益生菌 补充外源性益生菌, 能抑制肠道病原菌的生长, 维护肠道菌群之间平衡并减少细菌移位, 保护胃肠道黏膜屏障。Besselink等^[43]设计

的双盲多中心随机对照试验中, 将200例AP患者随机分为益生菌组和安慰剂组, 结果发现益生菌治疗组感染并发症较安慰剂组降低30%-50%。证明早期肠内应用益生菌可减少感染并发症, 控制全身炎症反应。

5.5 适时肠内营养 SAP患者为避免刺激胰液分泌, 在全身炎症反应占主导地位时常需禁食, 但长期胃肠外营养可损伤肠黏膜屏障功能, 诱发细菌移位, 掌握好肠内营养时机对肠道功能恢复具有重要意义。目前主张早期肠内营养, 肠黏膜的新陈代谢能量主要来源于肠道, 肠内营养不仅能满足胰腺炎治疗的生理要求而且能维持肠道的正常生理状态, 从而保护肠黏膜屏障, 防止细菌和内毒素移位^[44,45]。Kaushik等^[46]发现中远端空肠置管给营养元素可避免刺激胰液分泌, 起到更好的肠内营养的效果。

5.6 穿刺引流腹水 及时处理PAAF可以减少毒性物质的产生, 从而减轻胃肠道损伤的程度。Delattre等^[47]发现B超下腹腔置管引流能使SAP患者腹内压明显降低, 胃肠道功能恢复时间缩短, 且ARDS发生例数减少, 因而住院时间较短。其病死率也相对较未置管引流患者低。B超或CT引导下经皮置管引流术已成为治疗SAP合并PAAF的微侵袭疗法代表^[48]。其将炎性介质、多种酶及生物活性物质连同渗液一起排出体外, 减轻胰腺及全身的炎症反应, 并能迅速降低腹腔内压力, 在一定程度上降低胃肠功能障碍及多器官功能衰竭的发生率^[49]。局麻下腹腔置管引流操作简便易行, 相对于传统开腹手术来说, 创伤要小得多, 可床旁进行, 适应证及安全性广, 患者依从性好, 几乎适应于所有胰腺炎并腹水患者, 必要时还可行腹腔镜置管引流及腹腔灌洗治疗, 促进腹内有毒液体排出, 减少毒素吸收, 减轻胰腺坏死程度, 终止病理过程^[50-52]。

6 结论

胃肠动力障碍是SAP常见的临床表现, 纠正肠

道功能障碍是治疗SAP的重要环节, 对SAP的病程和预后有着重要的影响。随着研究的深入, 引起胃肠动力障碍的机制逐步阐明, 为临床治疗提供了更多的新思路。但具体到参与其中的细胞、分子及相互间的作用机制仍有许多不明确之处, 有待深入地研究与探讨。有效改善胃肠动力可以促进疾病的恢复, 但目前还没找到一种特效疗法, 临床上常多种方案联合使用, 目的是提高疗效、减少并发症、改善患者的预后。其治疗方法尚有待进一步的临床对照研究。

7 参考文献

- 1 Wilmore DW, Smith RJ, O'Dwyer ST, Jacobs DO, Ziegler TR, Wang XD. The gut: a central organ after surgical stress. *Surgery* 1988; 104: 917-923 [PMID: 3055397]
- 2 Seerden TC, De Man JG, Holzer P, Van den Bossche RM, Herman AG, Pelckmans PA, De Winter BY. Experimental pancreatitis disturbs gastrointestinal and colonic motility in mice: effect of the prokinetic agent tegaserod. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 856-864 [PMID: 17883437 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00968.x]
- 3 Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]
- 4 Reintam Blaser A, Poeze M, Malbrain ML, Björck M, Oudemans-van Straaten HM, Starkopf J. Gastrointestinal symptoms during the first week of intensive care are associated with poor outcome: a prospective multicentre study. *Intensive Care Med* 2013; 39: 899-909 [PMID: 23370829 DOI: 10.1007/s00134-013-2831-1]
- 5 Ohama T, Hori M, Ozaki H. Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: how smooth muscle contraction is reduced? *J Smooth Muscle Res* 2007; 43: 43-54 [PMID: 17598957 DOI: 10.1540/jsmr.43.43]
- 6 Petrov MS, Windsor JA. Nutritional management of acute pancreatitis: the concept of 'gut rousing'. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16: 557-563 [PMID: 23799325 DOI: 10.1097/MCO.0b013e3283638ed1]
- 7 Hierholzer C, Kalff JC, Chakraborty A, Watkins SC, Billiar TR, Bauer AJ, Tweardy DJ. Impaired gut contractility following hemorrhagic shock is accompanied by IL-6 and G-CSF production and neutrophil infiltration. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 230-241 [PMID: 11281168 DOI: 10.1023/A: 1005524021552]
- 8 Natale L, Piepoli AL, De Salvia MA, De Salvatore G, Mitolo CI, Marzullo A, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G, Mitolo-Chieppa D. Interleukins 1 beta and 6 induce functional alteration of rat colonic motility: an in vitro study. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 704-712 [PMID: 12864781 DOI: 10.1046/j.1365-2362.2003.01200.x]
- 9 耿东华, 李胜军, 刘金钢, 杨福全, 李航宇, 刘源. 尿激酶对大鼠重症急性胰腺炎肠道微循环障碍的作用. *中国医科大学学报* 2007; 36: 542-544
- 10 Ohama T, Hori M, Momotani E, Iwakura Y, Guo F, Kishi H, Kobayashi S, Ozaki H. Intestinal inflammation downregulates smooth muscle CPI-17 through induction of TNF-alpha and causes motility disorders. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1429-G1438 [PMID: 17307724 DOI: 10.1152/ajpgi.00315.2006]
- 11 王强, 王湘英. 胃肠激素紊乱与重症急性胰腺炎胃肠动力障碍的机制. *中华全科医师杂志* 2012; 11: 85-87
- 12 卢义展, 王湘英. 重症急性胰腺炎胃肠动力变化机制的研究进展. *中华肝胆外科杂志* 2010; 16: 476-480
- 13 Herbert MK, Holzer P. Standardized concept for the treatment of gastrointestinal dysmotility in critically ill patients--current status and future options. *Clin Nutr* 2008; 27: 25-41 [PMID: 17933437 DOI: 10.1016/j.clnu.2007.08.001]
- 14 Miyano Y, Sakata I, Kuroda K, Aizawa S, Tanaka T, Jogahara T, Kurotani R, Sakai T. The role of the vagus nerve in the migrating motor complex and ghrelin- and motilin-induced gastric contraction in suncus. *PLoS One* 2013; 8: e64777 [PMID: 23724093 DOI: 10.1371/journal.pone.0064777]
- 15 Wang X, Gong Z, Wu K, Wang B, Yang Y. Gastrointestinal dysmotility in patients with acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 57-62 [PMID: 12519225 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.02898.x]
- 16 何志宇, 陈光远. 重症急性胰腺炎与胃肠动力障碍的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1317-1322
- 17 周吕, 王礼建, 云天, 王玲. 电针胃经穴对狗胃肠移行性复合运动及脑肠肽释放的作用. *科学通报* 2000; 45: 2419-2426
- 18 Jonsson BH, Uvnäs-Moberg K, Theorell T, Gotthard R. Gastrin, cholecystokinin, and somatostatin in a laboratory experiment of patients with functional dyspepsia. *Psychosom Med* 1998; 60: 331-337 [PMID: 9625221]
- 19 Van Geldre LA, Lefebvre RA. Interaction of NO and VIP in gastrointestinal smooth muscle relaxation. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2483-2497 [PMID: 15320758 DOI: 10.2174/1381612043383890]
- 20 Zhongkai L, Jianxin Y, Weichang C. Vasoactive intestinal peptide promotes gut barrier function against severe acute pancreatitis. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 3557-3563 [PMID: 21725849 DOI: 10.1007/s11033-011-1129-z]
- 21 Hagen BM, Bayguinov O, Sanders KM. VIP and PACAP regulate localized Ca²⁺ transients via cAMP-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291: C375-C385 [PMID: 16571863 DOI: 10.1152/ajpcell.00495.2005]
- 22 Wang XY, Shi X, He L. [Effect of electroacupuncture on gastrointestinal dynamics in acute pancreatitis patients and its mechanism]. *Zhenci Yanjiu* 2007; 32: 199-202 [PMID: 17691580]
- 23 刘颖, 林中, 胡琼花, 郑清华. 伴有胃肠动力障碍的重症急性胰腺炎大鼠结肠肠肌间神经丛一氧化氮合成酶神经元的变化. *第三军医大学学报* 2010; 32: 274-277
- 24 Lin Z, Liu Y, Zheng Q, Hu Q. Increased proportion of nitric oxide synthase immunoreactive neurons in rat ileal myenteric ganglia after severe acute pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 127 [PMID: 22111589 DOI: 10.1186/1471-230X-11-127]
- 25 Wiest R, Cadelina G, Milstien S, McCuskey RS, Garcia-Tsao G, Groszmann RJ. Bacterial translocation up-regulates GTP-cyclohydrolase I in mesenteric vasculature of cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 38: 1508-1515 [PMID: 14647062 DOI: 10.1016/

■名词解释

胃肠动力: 胃肠壁肌肉有序、自主地收缩, 推动食物沿肠腔前进的过程;
胃肠动力障碍: 各种病因致胃肠道平滑肌细胞运动功能发生障碍的病理过程。

■同行评价

本文是一篇学术性很强的综述性研究。文章总结了重症急性胰腺炎(SAP)合并胃肠动力障碍的诊断和治疗经验。作者首先介绍了胃肠动力障碍的临床表现极其对病程演变的重要性,接着从其发病机制、诊断方法、评分、治疗等4个方面回顾了关于SAP合并胃肠动力障碍重要理论及临床实践,并进行了比较深入的分析。论文思路清晰,论述翔实。

- j.hep.2003.09.039]
- 26 Barocelli E, Ballabeni V, Ghizzardi P, Cattaruzza F, Bertoni S, Lagrasta CA, Impicciatore M. The selective inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents intestinal ischemia-reperfusion injury in mice. *Nitric Oxide* 2006; 14: 212-218 [PMID: 16504557 DOI: 10.1016/j.niox.2005.11.006]
 - 27 Gutierrez PT, Folch-Puy E, Bulbena O, Closa D. Oxidised lipids present in ascitic fluid interfere with the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response. *Gut* 2008; 57: 642-648 [PMID: 18203805 DOI: 10.1136/gut.2007.127472]
 - 28 Sugimoto M, Takada T, Yasuda H, Nagashima I, Amano H, Yoshida M, Miura F, Uchida T, Isaka T, Toyota N, Wada K, Takagi K, Kato K. The lethal toxicity of pancreatic ascites fluid in severe acute necrotizing pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 442-446 [PMID: 16795989]
 - 29 Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2006; 135: 18-26 [PMID: 16603187 DOI: 10.1016/j.jss.2006.02.050]
 - 30 Ke L, Ni HB, Sun JK, Tong ZH, Li WQ, Li N, Li JS. Risk factors and outcome of intra-abdominal hypertension in patients with severe acute pancreatitis. *World J Surg* 2012; 36: 171-178 [PMID: 21964817 DOI: 10.1007/s00268-011-1295-0]
 - 31 Ball CG, Kirkpatrick AW, McBeth P. The secondary abdominal compartment syndrome: not just another post-traumatic complication. *Can J Surg* 2008; 51: 399-405 [PMID: 18841232]
 - 32 Wang J, Xu P, Hou YQ, Xu K, Li QH, Huang L. Pancreatitis-associated ascitic fluid induces proinflammatory cytokine expression in THP-1 cells by inhibiting anti-inflammatory signaling. *Pancreas* 2013; 42: 855-860 [PMID: 23774701 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318279fe5c]
 - 33 Ramudo L, Manso MA, De Dios I. Biliary pancreatitis-associated ascitic fluid activates the production of tumor necrosis factor-alpha in acinar cells. *Crit Care Med* 2005; 33: 143-148; discussion 248 [PMID: 15644661]
 - 34 方向,程若川,陈玉祥,李俊,刘震. PAAF对大鼠血清TNF- α 、内毒素及胃黏膜损伤的影响. *肝胆胰外科杂志* 2009; 21: 363-365
 - 35 刘殿刚,孙家邦,李非,张淑文,朱斌. 胰腺炎相关腹水对大鼠胃肠动力的影响. *北京医学* 2005; 27: 546-549
 - 36 刘丽,高峻,李兆申. 重症急性胰腺炎时胃肠动力障碍机制的研究进展. *中华胰腺病杂志* 2009; 9: 70-72
 - 37 杨广印,胡翔龙,陈凌,刘庆城. 肠鸣音与胃肠运动相关性的初步观察. *福建中医学院学报* 2009; 19: 41-43
 - 38 ALDUAIS, Yaser, 孔浩,谢小平,杜凡,刘诗,侯晓华. 不透X线标记物法在评价结肠传输功能中的作用. *胃肠病学* 2011; 16: 337-340
 - 39 Liu Y, Luo HS. Quantitative analysis of intestinal gas in patients with acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 314-318 [PMID: 22672827 DOI: 10.1016/S1499-3872(12)60166-0]
 - 40 Sun JK, Li WQ, Ni HB, Ke L, Tong ZH, Li N, Li JS. Modified gastrointestinal failure score for patients with severe acute pancreatitis. *Surg Today* 2013; 43: 506-513 [PMID: 23361596 DOI: 10.1007/s00595-013-0496-6]
 - 41 王新宇,石现,何磊. 电针对急性胰腺炎患者胃肠动力的影响及其机制研究. *针刺研究* 2007; 32: 199-202
 - 42 侯冰宗,石磊,房思炼. 清胰汤保留灌肠对急性重症胰腺炎患者胃肠动力学变化机制的研究. *中山大学学报(医学科学版)* 2008; 29: 20-22
 - 43 Besselink MG, Timmerman HM, Buskens E, Nieuwenhuijs VB, Akkermans LM, Gooszen HG. Probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis (PROPATRIA): design and rationale of a double-blind, placebo-controlled randomised multicenter trial [ISRCTN38327949]. *BMC Surg* 2004; 4: 12 [PMID: 15456517 DOI: 10.1186/1471-2482-4-12]
 - 44 Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-1415; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]
 - 45 Petrov MS. Moving beyond the 'pancreatic rest' in severe and critical acute pancreatitis. *Crit Care* 2013; 17: 161 [PMID: 23837725 DOI: 10.1186/cc12770]
 - 46 Kaushik N, Pietraszewski M, Holst JJ, O'Keefe SJ. Enteral feeding without pancreatic stimulation. *Pancreas* 2005; 31: 353-359 [PMID: 16258370 DOI: 10.1097/01.mpa.0000183374.11919.e5]
 - 47 Delattre JF, Levy Chazal N, Lubrano D, Flament JB. [Percutaneous ultrasound-guided drainage in the surgical treatment of acute severe pancreatitis]. *Ann Chir* 2004; 129: 497-502 [PMID: 15556578 DOI: 10.1016/j.anchir.2004.09.006]
 - 48 Chen H, Li F, Sun JB, Jia JG. Abdominal compartment syndrome in patients with severe acute pancreatitis in early stage. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3541-3548 [PMID: 18567084 DOI: 10.3748/wjg.14.3541]
 - 49 Souza LJ, Coelho AM, Sampietre SN, Martins JO, Cunha JE, Machado MC. Anti-inflammatory effects of peritoneal lavage in acute pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 1180-1184 [PMID: 20683217 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181e664f2]
 - 50 栾春艳,张银华,刘秀珍,董涛,赵存新. 简易腹腔灌洗对重症急性胰腺炎血清炎症因子和各脏器功能的影响. *中国全科医学* 2010; 13: 2667-2669
 - 51 Fabbri C, Luigiano C, Maimone A, Polifemo AM, Tarantino I, Cennamo V. Endoscopic ultrasound-guided drainage of pancreatic fluid collections. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 479-488 [PMID: 23189219 DOI: 10.4253/wjge.v4.i11.479]
 - 52 Topazian M. Endoscopic Ultrasound-Guided Drainage of Pancreatic Fluid Collections (with Video). *Clin Endosc* 2012; 45: 337-340 [PMID: 22977831 DOI: 10.5946/ce.2012.45.3.337]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



经括约肌间手术在超低位直肠癌治疗中的应用

李华山, 李宇飞

李华山, 李宇飞, 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京市 100053

李华山, 主任医师, 主要从事肛肠疾病及结直肠癌的防治与研究。
作者贡献分布: 本文选题设计与审校由李华山完成; 文献资料搜集由李宇飞完成; 写作由李华山与李宇飞共同完成。

通讯作者: 李华山, 主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁街5号, 中国中医科学院广安门医院肛肠科. lihuashan@263.net

电话: 010-88001025

收稿日期: 2013-07-30 修回日期: 2013-09-16

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-08

Intersphincteric resection for treatment of ultra-low rectal cancer

Hua-Shan Li, Yu-Fei Li

Hua-Shan Li, Yu-Fei Li, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Correspondence to: Hua-Shan Li, Chief Physician, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang, Xicheng District, Beijing 100053, China. lihuashan@263.net

Received: 2013-07-30 Revised: 2013-09-16

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-08

Abstract

Traditional treatment for ultra-low rectal cancer is abdominal perineal resection, but it is associated with poor quality of life. With the continued development of surgical techniques, intersphincteric resection has been greatly improved. Its unique advantages include improvement of sphincter preservation and anal function after surgery and no requirement of a permanent stoma. Although the ability of defecation control needs to be gradually restored, intersphincteric resection has similar postoperative survival rate, relapse rate and oncology results to abdominal perineal resection. Thus, intersphincteric resection should be the preferred treatment for ultra-low rectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Intersphincteric resection; Ultra-low rectal cancer; Treatment

Li HS, Li YF. Intersphincteric resection for treatment of

ultra-low rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(34): 3835-3841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3835.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3835>

摘要

超低位直肠癌的外科传统治疗方式以经腹会阴联合切除术为主, 因术中需行永久性结肠造口, 故患者术后的生活质量会受到极大的影响。随着外科技术的不断发展, 经括约肌间切除手术在临床中不断得到开展与应用, 在治疗超低位直肠癌方面显示出了独特的优势, 他不仅可以大大提高患者的保肛率, 改善术后肛门功能, 而且可以免去患者失去肛门行永久性结肠造口的痛苦。虽术后肛门控便能力需逐渐恢复, 但术后生存率、复发率及肿瘤学结果等方面均与经腹会阴联合切除术相似。因此, 该术式可作为超低位直肠癌患者保留肛门功能的首选手术方式。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 经括约肌间切除术; 超低位直肠癌; 治疗

核心提示: 肿瘤未侵及肛提肌, 耻骨直肠肌或肛门外括约肌的高分化或中分化超低位直肠腺癌, 可选择经括约肌间切除术(intersphincteric resection), 在保证手术疗效的前提下, 可大大提高患者的保肛率。

李华山, 李宇飞. 经括约肌间手术在超低位直肠癌治疗中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3835-3841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3835.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3835>

0 引言

肛管直肠交界处的腺癌(肿瘤距肛缘<5 cm)在治疗方面没有标准化的手术方式, 传统治疗以经腹会阴联合切除术(abdominoperineal resection, APR)为主, 但术中行永久性结肠造口无论在心理上还是生理上对患者而言都具有极大的挑战, 随着外科技术的不断发展, 手术水平的不断提高以及患者对术后高质量生活品质的不断追求, 保

■背景资料

超低位直肠癌在治疗方面无标准化手术方式, 传统治疗以经腹会阴联合切除术为主, 但失去肛门行永久性结肠造口为患者带来极大痛苦; 经括约肌间手术在得到满意的肿瘤学结果同时, 可大大提高患者的保肛率并改善术后肛门功能。

■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

■研究前沿

经括约肌间手术用于治疗超低位直肠癌, 可达到保肛及保持肠道连续性的目的, 虽然术后的肛门功能有待进一步改善, 但与传统的经腹会阴联合切除术相比, 该术式可实现可接受的肛门功能, 且术后生存率、复发率、死亡率及肿瘤学结果等方面与传统术式相似。

留肛门括约肌手术即经括约肌间切除术(inter-sphincteric resection, ISR)在超低位直肠癌的外科治疗中应用比例显著增大^[1], 其肿瘤学结果可与APR相媲美, 且术后肛门功能恢复情况同样令人满意^[2], 因此越来越受到临床外科医师的重视。他不仅可以大大提高患者的保肛率, 改善患者术后肛门功能, 而且免去了患者失去肛门行永久性结肠造口的痛苦^[3]。因此该术式可作为超低位直肠癌患者保留肛门功能的首选手术方式。

1 术前评估

超低位直肠癌患者行术前检查, 主要目的是评估肿瘤的一般情况及与周围组织的关系, 为能否行保肛手术提供有效的临床参考。检查手段主要包括直肠指诊、钡剂灌肠、腹部及盆腔电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、直肠腔内超声等。其中直肠指诊是最简单、最基本也是最可靠的诊断手段, 约80%的直肠癌可经直肠指诊发现, 并为中低位直肠癌的诊断提供重要的临床信息。钡剂灌肠可以清楚的显示肿瘤的部位、大小、形态以及与周围组织的关系。直肠腔内超声可以清楚的显示肠壁层次结构及病变与盆腔脏器、大血管的相邻关系, 有助于准确判断肿瘤来源、大小、范围、浸润深度及周围肿大淋巴结情况等。腹部及盆腔CT、MRI则能够分辨普通X线无法识别的密度差异较小的组织, 均为手术顺利进行提供可靠参考。

对肿瘤没有浸润肛门外括约肌或肛提肌的患者可采用ISR手术, 即要求外括约肌的肿瘤学安全性, 这使得外括约肌受累的患者必须接受永久性结肠造口的痛苦。早期即有报道^[4]通过静脉注射和直肠灌注显影剂, 可使MRI诊断括约肌受肿瘤侵犯的特异性和敏感性分别达到94%和100%。欧阳书睿等^[5]认为直肠指检仍是决定是否行ISR的有效方法, 而肿瘤病理T分期($P = 0.038$); N分期($P = 0.044$)和术前CS分期($P < 0.001$)是影响直肠肛管癌ISR选择的独立因素。而有报道^[6,7]证实, 直肠腔内超声和盆腔核磁共振对肿瘤的TNM分期和浸润范围的判断尤为重要, 因此是术前重要的辅助检测手段。

2 手术方法及指征

2.1 手术方法 ISR操作主要根据Schiessel等^[8]和Braun等^[9]提出的标准进行, 手术的全部流程由

腹腔内, 盆腔内的操作和肛门侧操作两个方向的路径构成, 经腹完成全直肠系膜切除(total mesorectal excision, TME), 直肠游离至肛提肌平面后, 经肛门于括约肌间沟处切开肛管皮肤, 分离内括约肌直至将直肠及内括约肌全部切除, 再行结肠肛管吻合, 肿瘤远端切除长度至少应达1 cm, 外周切缘4 mm以上。

2.2 手术指征 为了保证手术的根治性, ISR主要适用于范围局限, 未侵及肛提肌, 耻骨直肠肌或肛门外括约肌的高分化或中分化腺癌。而对低分化腺癌, 肿瘤侵及肛提肌者或肛门功能不良者则不宜采用^[10,11], 虽然原则上肿瘤没有侵及肛门外括约肌便可应用ISR术式, 但为达到良好的治疗效果, 仍需严格掌握手术适应证^[12], 亦有报道^[13], 部分外括约肌切除后行结肠肛管吻合亦可达到满意的肛门功能, 但不可一味地为保留肛门外观而无视肿瘤情况, 强行行该术式。李立等^[14]明确的概括了该手术的适应证和禁忌证。

2.2.1 适应证: (1)肛门外括约肌和/或耻骨直肠肌未受明显浸润; (2)括约肌功能测定良好; (3)直肠肛管区域多发, 广基绒毛状腺瘤或腺瘤恶变超过齿线范围广泛者; (4)部分T3期超低位直肠癌和直肠肛管癌; (5)术前病理诊断不明确临床高度怀疑的极低位肿瘤; (6)直肠恶性间质瘤; (7)癌灶距离肛门有一定距离的低位直肠癌, 但因盆腔极度狭窄或肿瘤巨大系膜肥厚而前切除术无法经腹内闭合者。

2.2.2 禁忌证: (1)巨大溃疡型的T3期侧壁和前壁癌侵及齿线者; (2)已明确浸润盆侧壁或盆底肛提肌和外括约肌; (3)部分阴道壁浸润者; (4)高龄体弱伴有大便失禁者; (5)术前病理检查证实肿瘤为低分化或黏液腺癌者, 或术中发现黏膜下肌层广泛浸润僵硬者, 是ISR最主要禁忌证。

2.3 手术技巧 为达到满意的手术疗效, 术中需掌握一定手术技巧^[15], 以保证手术顺利进行: (1)肛管切除线一定要垂直于肛管, 直接切透肛管全层达内、外括约肌间隙, 再沿此间隙向腹部游离, 应避免剥除直肠黏膜; (2)辨别内外括约肌的技巧: 内括约肌纤维紧密纤细, 呈粉白色(“鸡肉丝”样), 外括约肌纤维明显粗大, 呈红色(“牛肉丝”样), 上述两种类型的肌束均有肌膜包裹, 其间存在天然的间隙; (3)有学者认为在此层面无血管^[16], 亦有研究表明, 在肛管右侧近3点和左侧近10点处, 内外括约肌间隙内有1支肛管动脉分支, 术中有时电凝止血无效, 需要结扎。

3 术后肛门功能

ISR术后虽可保留患者完整的肛门形态,但在肛门功能及控便能力方面仍有待进一步改善,需在术后逐渐恢复^[17,18]. Giglio等^[19]报道28例行ISR术的低位直肠癌患者,术后1年内的大便次数较多,肛门失禁情况较为严重,并极大地影响了患者的生活质量,但在长期随访中,患者的肛门控便能力及生活质量均将大幅改善.为防止术后因便次较多,影响吻合口愈合,可术中行临时性结肠造口,使粪便转流,直至吻合口完全愈合^[20].亦可术中行J型储袋,与结肠肛管直接吻合术相比,在术后肛门生物学及功能学结果方面略有优势^[21].全部内括约肌切除的患者,术后早期肛门感觉及控便能力均明显受损,但远期恢复情况尚满意^[22]. Kuo等^[23]报道90.8%的患者手术后的肛门功能令人满意,术后每24小时的平均大便次数约为4.7次,38.1%患者大便不成形,23.8%患者有夜间排便现象,1/3患者需服止泻药物减少大便次数.从进春等^[24]认为直肠肛管向量测压技术是评估低位直肠癌患者行经内外括约肌间切除术后肛门括约功能较客观的方法,经内外括约肌间切除术后患者肛管最大压力及向量容积下降,肛门功能不如行低位前切除术者.

术后肛门功能的好坏与手术中括约肌切除范围、术前放化疗与否及吻合口位置等因素密切相关. Yamada等^[25]认为ISR术后肛门功能的好坏,与肛门内括约肌的切除程度有关,行全部ISR切除的患者肛门控便能力要明显差于次全切和部分内括约肌切除的患者.术前放化疗虽然可以缩小肿瘤大小,增加切缘距离,降低肿瘤恶性程度和分期,甚至无癌残留,实现治愈目的^[26-28],但众多报道均认为术前放化疗对ISR术后肛门功能会产生很大负面影响. Ito等^[29]认为是否行术前放化疗是ISR术后肛门功能较差的危险因素(OR = 10.3, 95%CI: 2.3-46.3, $P < 0.01$),且与肛门内括约肌的切除程度和范围有一定关系.这与之后Koyama等^[30]报道的结果极为相似,他认为术前放疗是ISR术后不良反应出现及肛门功能较差的一个重要危险因素,并报道22例行ISR的低位直肠癌患者在术前放疗组和未放疗组的术后并发症和肿瘤学结果方面未见显著差异,但在肛门控便能力方面差异显著,经过平均6.8年的随访时间,每24小时临厕的次数在联合放疗组和未行放疗组分别为4.5次和2.7次.因此有学者认为^[31],对于无需行术前放化疗治疗的T1、T2期低位直肠癌患者,推荐行ISR

手术,以期得到良好的肛门功能,避免术后不良反应的发生. Denost等^[32]认为ISR术后控便能力的好坏主要取决于肿瘤的位置及吻合口的高度.若肿瘤距肛管直肠环的距离 >1 cm(OR = 5.88, 95%CI: 1.75-19.80, $P = 0.004$),及吻合口的高度距离肛门缘 >2 cm(OR = 6.59, 95%CI: 1.12-38.67, $P = 0.037$),则ISR术后可获得相对满意的肛门控便能力.

4 术后并发症

经括约肌间切除手术在一定程度上可保留患者的肛门形态及基本满意的肛门功能,但在术后并发症发生方面鲜见广泛的基础研究及临床随机对照试验研究报道,只可见散在病例报道,因此我们需要在以后的临床实践中进一步观察及总结,更好的完善手术方式,使术后并发症的发生率降至最低. ISR术后较常见的临床并发症包括:吻合口瘘、吻合口狭窄、盆腔感染、吻合口及腹腔出血、肠梗阻及腹部伤口感染等方面.且以上诸多并发症大多数可通过手术中仔细操作及术者明晰的解剖知识、清晰的术野显露及娴熟的手术技巧所避免.

吻合口瘘的发生是结直肠手术后最为常见的术后并发症之一,其发生率可达2.6%,术前白蛋白 <3.5 g/dL,手术时间 ≥ 100 min,术中出血 ≥ 200 mL,术中输血等因素是发生吻合口瘘的高危因素^[33]. Schiessel等^[34]对117例距肛缘平均距离为3 cm(1-5 cm)的直肠癌患者行ISR术,其术后并发症主要包括:肺栓塞1例,5.1%患者出现吻合口瘘,术后膀胱瘘需行2次手术修补者1例,术后并发肠梗阻行二次手术者1例,腹腔内出血1例,小肠瘘1例,吻合口狭窄5例.中位随访72.86 mo后,5.3%患者出现局部复发.但术后肛门控便能力是满意的,16例患者(13.7%)可控制成形固态便,仅1例(0.8%)出现肛门失禁.但大多数患者在造口关闭术后出现大便次数明显增多现象. Saito等^[16]对35例肿瘤位于齿线上0-2 cm的超低位直肠癌患者行ISR术,所有患者均于术后6 mo关闭临时性结肠造口,20例患者接受术前放化疗,术后无死亡病例,13例患者发生术后并发症:吻合口周围脓肿4例,吻合口瘘4例,术后出血2例,伤口感染1例,吻合口狭窄1例,直肠阴道瘘1例.在中位观察期内(23 mo)5例患者出现复发(1例肝转移,2例肺转移,1例局部复发并肺转移,1例腹壁转移).21例患者在造口关闭后,肛门自制能力满意,但5例在造口关闭后12 mo中出现轻

■ 相关报道

Saito等报道202例低位直肠癌患者,132例行ISR术,70例行APR术,ISR组的中位随访时间是40 mo,APR组的中位随访时间是57 mo,ISR组5年局部无复发生存率为83%,APR组为80%($P = 0.364$).ISR组5年无病生存率为69%,APR组为63%($P = 0.714$).

■创新盘点

本文所涉及的内容基本概述了经括约肌间手术在治疗超低位直肠癌中的重要作用,并且分别从术前检查、手术适应证及术后肛门功能、并发症及疗效等方面做了全面综述,对临床具有很好的指导意义。

微肛门遗粪现象。

5 疗效评价

超低位直肠癌在手术治疗方面以传统的经腹会阴联合切除术为主,但随着患者对保留肛门的强烈愿望,ISR在临床中逐渐应用,并在保留患者肛门功能及保持肛管延续性的前提下,在肿瘤学结果及手术疗效等方面可与APR术相媲美^[35]。

一项系统评价分析ISR手术的近远期疗效显示,其术后平均死亡率<2%,平均发病率在7.7%-38.3%之间,平均局部复发率在0%-22.7%之间,平均随访40-94 mo,平均5年无病生存时间及总生存时间分别为68-86 mo、79-97 mo,术后功能学结果亦是可接受的^[36]。张宏等^[37]通过临床实践观察,认为ISR手术并发症少,安全性高,肿瘤根治效果与排便功能恢复满意,并针对16例超低位直肠癌患者施行该术式,全组术后无死亡及吻合口瘘发生病例,术后随访3 mo至7年内,无盆腔或吻合口局部复发者,术后3、6、12 mo分别有62.5%、80.0%、84.6%的患者达到良好的肛门功能。Shiomi等^[38]报道37例T1-T2期的低位直肠癌患者施行ISR手术,平均手术时间为315 min(195-502 min),平均出血量为37 mL(0-745 mL),1例中转开腹,所有病例均行R0切除,无术中死亡病例,平均随访2.8年(187-2241 d),3年无病生存率为93.1%,无局部复发病例,术后肛门功能令人满意。Prete等^[2]报道84例患者行ISR术,其中55例行开腹手术,29例行腹腔镜手术,除2例为R1切除外,其余全部行R0切除,围手术期死亡率为1.1%,总发病率为27.7%(其中有6%发生吻合口瘘)。在肠道连续性恢复1年以后,76%的患者肛门显示了较好的控便能力。术后随访60 mo内,局部复发率为2.4%,5年生存率为81.7%,疗效满意。Braun等^[9]将140例超低位直肠癌患者分为两组,63例行ISR术,77例行APR术,所有患者术后平均生存时间为6.7年(3-13.6年)。ISR术后11%出现盆腔复发,33%出现远处转移,而在APR组盆腔复发及远处转移率分别为17%和35%,5年生存率方面,ISR组与APR组分别为62%和53%。85%的患者行ISR术后保留良好的肛门控便功能。Dumont等^[39]认为ISR与APR手术在术后生活质量评分及术后肛门功能方面无差别,两组术后肛门失禁率分别为58.2%与41%($P=0.221$)。

而在肿瘤学结果方面,对于低位直肠癌而言,ISR术式可以获得与APR手术相似的可接受

的肿瘤学结果^[40]。202例低位直肠癌患者,132例行ISR,70例行APR,ISR组的中位随访时间是40 mo,APR组的中位随访时间是57 mo,ISR组5年局部无复发生存率为83%,APR组为80%($P=0.364$)。ISR组5年无病生存率为69%,APR组为63%($P=0.714$)。Akagi等^[41]报道124例患者,均行ISR手术,术后发病率为12%,包括吻合口瘘的发生率为5.6%,无院内死亡病例,I、II、III期肿瘤的局部复发率分别为4.7%、4.9%、5.0%,5年无复发生存率分别为92.2%、81.9%、69.6%,5年癌症特异性生存率分别为90.5%、91.0%、83.6%,总的无复发生存率及局部复发率与APR手术无差异。Hohenberger等^[42]亦认为两种术式疗效相当,在术后并发症的发生率、肿瘤学结果及术后死亡率方面,两者无显著差异。

6 腹腔镜手术

目前外科手术治疗正朝着微创方向发展,腹腔镜下行ISR作为超低位直肠癌患者保留肛门功能的一种有前景的手术方式,将会获得更多的关注^[43]。与开腹手术相比,腹腔镜下TME联合ISR是一种可行的,安全的术式选择,具有手术时间短,术野暴露清晰,术中出血少,更好的神经保护及术后并发症轻微等优势^[44,45],因此可获得良好的术后结果^[46]。

Rullier等^[47]在早期即分析腹腔镜下ISR的可行性,并表明在神经保留和肛门功能保留方面可显示一定优势。32例距肛缘5 cm的超低位直肠癌患者行腹腔镜下ISR,大部分为T3期患者,并均接受术前放疗,手术在放疗后6 wk进行,其中31例达到保肛目的,24例保留了下腹下神经丛和盆腔神经丛,18例男性患者中的10例保留了性功能,术中3例中转开腹,30例达R0切除。Fujimoto等^[48]对35例超低位直肠癌患者行腹腔镜下TME联合ISR,与开腹手术相比,在手术时间及出血量方面显示出了较明显的优势。其中中转开腹(3%)1例,34例达R0切除,32例完整保留盆丛神经,且无术后死亡病例。平均手术时间为293 min,平均出血量40 mL,术后平均住院时间为17 d,在所有病例中均完成全直肠系膜切除。Napolitano等^[49]认为超低位直肠癌患者行腹腔镜下ISR,术后并发症轻微且疗效肯定。25例患者肿瘤距肛缘平均3.8 cm(2.8-6.0 cm),平均手术时间为260 min(220-360 min),无中转开腹记录,切缘均为阴性。术后因吻合口瘘行再次手术者6例,术后短暂性尿储留2例,勃起功能障碍1例,轻微

肛门失禁1例。术后平均随访的48 mo(6-54 mo)内, 肝转移1例, 余无局部复发。

7 结论

对于超低位直肠癌患者而言, 术后良好的肿瘤学结果和令人满意的生活质量是我们手术追求的目标, 免受永久性肠造口之苦及术后低复发率和死亡率对于患者而言也是极其重要的。ISR用于治疗超低位直肠癌或直肠肛管癌, 可达到保肛及保持肠道连续性的目的, 虽然ISR术后的肛门功能有待进一步改善, 但与传统的APR术式相比, ISR实现了可接受的肛门功能, 且术后生存率、复发率、死亡率及肿瘤学结果等方面与APR手术相似。然而术前严格的病例筛选, 仔细的术前评估及不断完善的手术技巧, 都会对术后的功能学及肿瘤学结果产生重大的影响。因此, ISR为超低位直肠癌患者提供一种有效的手术方式, 可作为超低位直肠癌患者保留肛门功能的首选手术方式^[50], 值得在临床中推广。

8 参考文献

- 刘宏斌, 韩晓鹏, 孟文喆, 吴伟强, 孙鑫. 保肛手术在低位直肠癌外科治疗的临床价值. 中国现代医学杂志 2006; 16: 1549-1551
- Prete F, Prete FP, Nitti P, De Luca R, Vincenti L. [Evolution of surgery for cancer of the anorectal junction]. *Chir Ital* 2007; 59: 763-770 [PMID: 18360980]
- Saito N, Moriya Y, Shirouzu K, Maeda K, Mochizuki H, Koda K, Hirai T, Sugito M, Ito M, Kobayashi A. Intersphincteric resection in patients with very low rectal cancer: a review of the Japanese experience. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: S13-S22 [PMID: 17106809 DOI: 10.1007/s10350-006-0598-y]
- Urban M, Rosen HR, Hölbling N, Feil W, Hochwarther G, Hruby W, Schiessel R. MR imaging for the preoperative planning of sphincter-saving surgery for tumors of the lower third of the rectum: use of intravenous and endorectal contrast materials. *Radiology* 2000; 214: 503-508 [PMID: 10671600]
- 欧阳书睿, 陈华, 邓磊, 吕东昊, 陈小龙, 肖凌, 曾天芳, 汪晓东, 李立. 直肠肛管癌选择经括约肌间切除术的多因素分析. 肿瘤防治研究 2011; 38: 803-805
- Holzer B, Urban M, Hölbling N, Feil W, Novi G, Hruby W, Rosen HR, Schiessel R. Magnetic resonance imaging predicts sphincter invasion of low rectal cancer and influences selection of operation. *Surgery* 2003; 133: 656-661 [PMID: 12796734 DOI: 10.1067/msy.2003.150]
- Salerno GV, Daniels IR, Moran BJ, Heald RJ, Thomas K, Brown G. Magnetic resonance imaging prediction of an involved surgical resection margin in low rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 632-639 [PMID: 19404067 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181a0a37e]
- Schiessel R, Karner-Hanusch J, Herbst F, Teleky B, Wunderlich M. Intersphincteric resection for low rectal tumours. *Br J Surg* 1994; 81: 1376-1378 [PMID: 7953423 DOI: 10.1002/bjs.1800810944]
- Braun J, Treutner KH, Winkeltau G, Heidenreich U, Lerch MM, Schumpelick V. Results of intersphincteric resection of the rectum with direct coloanal anastomosis for rectal carcinoma. *Am J Surg* 1992; 163: 407-412 [PMID: 1532699 DOI: 10.1016/0002-9610(92)90042-P]
- Zhang YJ, Yin L, Huang L, Zhang HB, Han Y, Lin MB. Long-term results of intersphincteric resection for low rectal cancer. *J Invest Surg* 2013; 26: 217-222 [PMID: 23273177 DOI: 10.3109/08941939.2012.747575]
- Saito N, Ito M, Kobayashi A, Nishizawa Y, Sugito M. [Sphincter-saving resection for low rectal cancer]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 2011; 112: 318-324 [PMID: 21941822]
- Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Ishikawa K, Fujimoto H, Shinto E, Hase K. Preoperative parameters expanding the indication of sphincter preserving surgery in patients with advanced low rectal cancer. *Ann Surg* 2004; 239: 34-42 [PMID: 14685098 DOI: 10.1097/01.sla.0000103070.13030.eb]
- Shelygin YA, Vorobiev GI, Pikunov DY, Markova EV, Djhanaev YA, Fomenko OY. Intersphincteric resection with partial removal of external anal sphincter for low rectal cancer. *Acta Chir Jugosl* 2008; 55: 45-53 [PMID: 19069692 DOI: 10.2298/ACI0803045S]
- 李立, 汪晓东, 舒晔, 于永扬, 王存, 王自强, 王天才, 周总光. 四川大学华西医院·结直肠癌手术指南(四). 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 75-76
- 渠浩, 王振军, 杜燕夫, 李敏哲, 杨新庆. TME经括约肌间切除术在超低位直肠癌根治性保肛中的作用. 首都医科大学学报 2007; 28: 17-19
- Saito N, Ono M, Sugito M, Ito M, Morihiro M, Kosugi C, Sato K, Kotaka M, Nomura S, Arai M, Kobatake T. Early results of intersphincteric resection for patients with very low rectal cancer: an active approach to avoid a permanent colostomy. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 459-466 [PMID: 14978613 DOI: 10.1007/s10350-003-0088-4]
- Gong X, Jin Z, Zheng Q. Anorectal function after partial intersphincteric resection in ultra-low rectal cancer. *Colorectal Dis* 2012; 14: e802-e806 [PMID: 22776358 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03177.x]
- Pucciani F. A review on functional results of sphincter-saving surgery for rectal cancer: the anterior resection syndrome. *Updates Surg* 2013; 65: 257-263 [PMID: 23754496 DOI: 10.1007/s13304-013-0220-5]
- Giglio MC, Persico M, Quarto G, Benassai G, Luglio G, Tarquini R, Celentano V, Sollazzo V, Bucci L. Intersphincteric resection for rectal cancer: role in fecal continence and Quality of Life. *Ann Ital Chir* 2013; 84: 287-290 [PMID: 23856629]
- Zuo ZG, Song HY, Xu C, Li J, Ni SC, Zhou ZH, Chen SQ. [Value of protective stoma in intersphincteric resection for ultra-low rectal cancer]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2010; 48: 1479-1483 [PMID: 21176655]
- Willis S, Kasperk R, Braun J, Schumpelick V. Comparison of colonic J-pouch reconstruction and straight coloanal anastomosis after intersphincteric rectal resection. *Langenbecks Arch Surg* 2001; 386: 193-199 [PMID: 11382321 DOI: 10.1007/s004230100214]
- 王振军, 万远廉, 刘玉村, 王庆国, 申文江, 黄筵庭. 一种切除部分齿状线和肛管全层的超低位保肛手术. 中华胃肠外科杂志 2002; 5: 25-28
- Kuo LJ, Hung CS, Wu CH, Wang W, Tam KW, Li-

■应用要点

ISR术在超低位直肠癌治疗方面显示了独特优势, 在大大提高患者保肛率, 改善术后肛门功能的同时, 可免去患者失去肛门行永久性造口的痛苦。虽术后肛门控便能力需逐渐恢复, 但术后生存率、复发率及肿瘤学结果等方面均与APR术相似。该术式可作为超低位直肠癌患者保留肛门功能的首选术式。

■名词解释

经括约肌间手术: 直肠癌经腹完成全直肠系膜切除后, 直肠游离至肛提肌平面, 再经肛门于括约肌间沟处切开肛管皮肤, 分离内括约肌直至将直肠及内括约肌全部切除, 再行结肠肛管吻合的一种手术方式。

- 24 从进春, 戴显伟, 张宏, 陈春生, 刘恩卿. 低位直肠癌经内外括约肌间切除术后直肠肛管向量测压的研究. 中国普外基础与临床杂志 2007; 14: 634-638
- 25 Yamada K, Ogata S, Saiki Y, Fukunaga M, Tsuji Y, Takano M. Functional results of intersphincteric resection for low rectal cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 1272-1277 [PMID: 17671960 DOI: 10.1002/bjs.5534]
- 26 王振军, 梁小波, 杨新庆, 杨斌, 黄庭庭. 经肛门内外括约肌间切除直肠的直肠癌根治术疗效评价. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 111-113
- 27 Elshazly WG, Farouk M, Samy M. Preoperative concomitant radiotherapy with oral capecitabine in advanced rectal cancer within 6 cm from anal verge. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 401-407 [PMID: 19084971 DOI: 10.1007/s00384-008-0623-9]
- 28 Weiser MR, Quah HM, Shia J, Guillem JG, Paty PB, Temple LK, Goodman KA, Minsky BD, Wong WD. Sphincter preservation in low rectal cancer is facilitated by preoperative chemoradiation and intersphincteric dissection. *Ann Surg* 2009; 249: 236-242 [PMID: 19212176 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318195e17c]
- 29 Ito M, Saito N, Sugito M, Kobayashi A, Nishizawa Y, Tsunoda Y. Analysis of clinical factors associated with anal function after intersphincteric resection for very low rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 64-70 [PMID: 19273958 DOI: 10.1007/DCR.0b013e31819739a0]
- 30 Koyama M, Murata A, Sakamoto Y, Morohashi H, Tsutsumi S, Yonaiyama S, Hakamada K, Morita T. [Long-term clinical effects of preoperative radiotherapy on anal function after intersphincteric resection]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2011; 38: 2106-2109 [PMID: 22202298]
- 31 Nagayama S, Al-Kubati W, Sakai Y. What is the place of intersphincteric resection when operating on low rectal cancer? *ISRN Surg* 2012; 2012: 585484 [PMID: 22900203 DOI: 10.5402/2012/585484]
- 32 Denost Q, Laurent C, Capdepon M, Zerbib F, Rullier E. Risk factors for fecal incontinence after intersphincteric resection for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 963-968 [PMID: 21730784 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31821d3677]
- 33 Telem DA, Chin EH, Nguyen SQ, Divino CM. Risk factors for anastomotic leak following colorectal surgery: a case-control study. *Arch Surg* 2010; 145: 371-376; discussion 376 [PMID: 20404288 DOI: 10.1001/archsurg.2010.40]
- 34 Schiessel R, Novi G, Holzer B, Rosen HR, Renner K, Hölbling N, Feil W, Urban M. Technique and long-term results of intersphincteric resection for low rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1858-1865; discussion 1865-1867 [PMID: 16086223]
- 35 Chin CC, Yeh CY, Huang WS, Wang JY. Clinical outcome of intersphincteric resection for ultra-low rectal cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 640-643 [PMID: 16489683]
- 36 Akagi Y, Kinugasa T, Shirouzu K. Intersphincteric resection for very low rectal cancer: a systematic review. *Surg Today* 2013; 43: 838-847 [PMID: 23139048 DOI: 10.1007/s00595-012-0394-3]
- 37 张宏, 陈春生, 丛进春, 乔雷, 冯勇, 刘恩卿. 括约肌间切除术在超低位直肠癌保肛手术中的应用. 中国普通外科杂志 2007; 16: 835-838
- 38 Shiomi A, Kinugasa Y, Yamaguchi T, Tsukamoto S, Tomioka H, Kagawa H. Feasibility of Laparoscopic Intersphincteric Resection for Patients with cT1-T2 Low Rectal Cancer. *Dig Surg* 2013; 30: 272-277 [PMID: 23970304 DOI: 10.1159/000354034]
- 39 Dumont F, Ayadi M, Goéré D, Honoré C, Elias D. Comparison of fecal continence and quality of life between intersphincteric resection and abdominoperineal resection plus perineal colostomy for ultra-low rectal cancer. *J Surg Oncol* 2013; 108: 225-229 [PMID: 23868337 DOI: 10.1002/jso.23379]
- 40 Saito N, Sugito M, Ito M, Kobayashi A, Nishizawa Y, Yoneyama Y, Nishizawa Y, Minagawa N. Oncologic outcome of intersphincteric resection for very low rectal cancer. *World J Surg* 2009; 33: 1750-1756 [PMID: 19488814 DOI: 10.1007/s00268-009-0079-2]
- 41 Akagi Y, Shirouzu K, Ogata Y, Kinugasa T. Oncologic outcomes of intersphincteric resection without preoperative chemoradiotherapy for very low rectal cancer. *Surg Oncol* 2013; 22: 144-149 [PMID: 23591063 DOI: 10.1016/j.suronc.2013.03.003]
- 42 Hohenberger W, Merkel S, Matzel K, Bittorf B, Papadopoulos T, Göhl J. The influence of abdominoperineal (intersphincteric) resection of lower third rectal carcinoma on the rates of sphincter preservation and locoregional recurrence. *Colorectal Dis* 2006; 8: 23-33 [PMID: 16519634 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2005.00839.x]
- 43 Kuo LJ, Hung CS, Wang W, Tam KW, Lee HC, Liang HH, Chang YJ, Huang MT, Wei PL. Intersphincteric resection for very low rectal cancer: clinical outcomes of open versus laparoscopic approach and multidimensional analysis of the learning curve for laparoscopic surgery. *J Surg Res* 2013; 183: 524-530 [PMID: 23465434 DOI: 10.1016/j.jss.2013.01.049]
- 44 Zhou ZX, Zheng XF, Song HY, Jiang FZ, Wang ZJ, Zuo ZG, Cai HJ, Ruan XJ. [Laparoscopic total mesorectal excision combined with intersphincteric resection for ultra-low rectal cancer]. *Zhonghua Weichang Waiké Zazhi* 2011; 14: 440-442 [PMID: 21713705]
- 45 Peeters KC, Stassen LP. Laparoscopic intersphincteric resection: a feasible technique or the treatment of choice for patients with low rectal cancer? *Dig Surg* 2011; 28: 410-411 [PMID: 22189034 DOI: 10.1159/000334921]
- 46 Zhou T, Zhang GJ, Liu ZL, Tian HP. [Laparoscopic versus open intersphincteric resection for low rectal cancer: a clinical comparative study]. *Zhonghua Weichang Waiké Zazhi* 2013; 16: 565-569 [PMID: 23801212]
- 47 Rullier E, Sa Cunha A, Couderc P, Rullier A, Gontier R, Saric J. Laparoscopic intersphincteric resection with coloplasty and coloanal anastomosis for mid and low rectal cancer. *Br J Surg* 2003; 90: 445-451 [PMID: 12673746]
- 48 Fujimoto Y, Akiyoshi T, Kuroyanagi H, Konishi T, Ueno M, Oya M, Yamaguchi T. Safety and feasibility of laparoscopic intersphincteric resection for very low rectal cancer. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 645-650 [PMID: 20094813 DOI: 10.1007/s11605-009-1150-x]
- 49 Napolitano L, Cellini C, Iacovetta D, Waku M, Innocenti P. [Low rectal cancer: therapeutic options and clinical experience of a single center]. *G Chir*

2011; 32: 123-127 [PMID: 21453590]
50 Rahman MS, Khair MA, Khanam F, Haque S, Alam MK, Haque MM, Salam MA, Sikder AH. Sphincter

saving surgery is the standard procedure for treatment of low rectal cancer. *Mymensingh Med J* 2013; 22: 281-288 [PMID: 23715349]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



■同行评价

本文从经括约肌间手术在超低位直肠癌治疗中的应用研究热点方面对低位直肠癌的治疗,特别是提高患者的保肛率、改善术后肛门功能及术后肿瘤的预后方面进行较全面的阐述,内容客观全面,观点新颖,具有一定的科学意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊,每月8、18、28号按时出版。具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复。

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议。编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿。

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改。作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复。为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果。

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量。对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知。稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出。

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对。彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误。排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误。

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校。责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色。责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对。责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑。

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷。责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件。编务配合档案管理员邮寄杂志。

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等。

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一。为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成。(《世界华人消化杂志》编辑部)

肛周脓肿的外科治疗

吴炯, 王振宜, 孙建华

■背景资料

肛门直肠周围脓肿, 简称肛周脓肿(perianal abscess), 是肛管直肠周围间隙发生急、慢性化脓性感染所形成。在外科疾病中, 肛门直肠疾病占到约15%。其中肛周脓肿的发病率为0.4%。因其解剖位置特殊, 故对其手术的方法一直存在争议。

吴炯, 王振宜, 孙建华, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院肛肠科 上海市 200437

吴炯, 主治医师, 主要从事中西医结合治疗肛肠病的研究。

上海市第三批中医临床优势专科基金资助项目, No.

ZYSXD-YL-YSZK008

作者贡献分布: 本文综述由吴炯与王振宜完成; 孙建华审校。

通讯作者: 孙建华, 主任医师, 200437, 上海市虹口区甘河路110号, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院肛肠科。

drsunjianhua@hotmail.com

电话: 021-65161782-6051

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-11-07

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-08

Operative treatment of perianal abscess

Jiong Wu, Zhen-Yi Wang, Jian-Hua Sun

Jiong Wu, Zhen-Yi Wang, Jian-Hua Sun, Department of Anorectal Medicine, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Supported by: the Third Batch of Clinical Advantages of TCM College Fund of Shanghai, No. ZYSXD-YL-YSZK008

Correspondence to: Jian-Hua Sun, Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 110 Ganhe Road, Hongkou District, Shanghai 200437, China. drsunjianhua@hotmail.com

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-11-07

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-08

Abstract

Perianal abscess is a common disease. Due to the special anatomical position, management of perianal abscess is still controversial. Especially, the treatment of deep perianal abscess is very difficult, because it is difficult to confirm the relationship among internal opening, extent of deep anorectal abscess and anorectal sphincters. Correct treatment of the internal opening and extent of deep anorectal abscess is the key to success. Treating the fistula and the abscess at the same time by incision and drainage may reduce the likelihood of recurrent abscess and the need for repeat surgery. However, this could affect sphincter function in some patients who may not later develop a fistula-in-ano. The results of current treatments for perianal abscess are not very satisfactory. More studies are needed in future.

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Perianal abscess; Diagnosis; Operative treatment

Wu J, Wang ZY, Sun JH. Operative treatment of perianal abscess. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3842-3847
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3842.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3842>

摘要

肛周脓肿作为一种普通的外科疾病, 因其解剖位置特殊, 故对其手术的方法一直存在争议。尤其是深部肛周脓肿的处理非常棘手, 主要原因是难以确定内口以及病灶涉及范围与肛门括约肌之间的复杂关系。正确处理内口、感染所波及的间隙是肛周脓肿治疗成败的关键。切开引流肛周脓肿的同时处理原发性瘘管可以降低脓肿的复发以及避免再次肛瘘手术, 但有可能影响括约肌功能。从目前的研究结果看, 肛周脓肿的治疗效果还不甚令人满意, 还需要更多地进行探索。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肛周脓肿; 诊断; 手术治疗

核心提示: 术前影像学的诊断对于肛周脓肿的评估具有重要的意义, 能指导术者选择合适的手术入路进行治疗, 而合适的手术方法能有效避免括约肌功能的损伤及降低术后复发率。

吴炯, 王振宜, 孙建华. 肛周脓肿的外科治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3842-3847 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3842.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3842>

0 引言

肛门直肠周围脓肿, 简称肛周脓肿(perianal abscess), 是肛管直肠周围间隙发生急、慢性化脓性感染所形成。他的发病率很难准确的统计, 因为存在很多不确定因素, 比如一部分肛周脓肿患者会就医手术, 这部分患者就会被纳入到有

效统计, 而另一部分患者会因肿块自行溃破或症状缓解, 无法有效统计. 曾有一项研究显示^[1], 在外科疾病中, 肛门直肠疾病占到约15%, 其中肛周脓肿的发病率为0.4%.

肛门直肠周围脓肿通常发生在健康人群, 目前被广泛接受的致病原因是腺源感染学说, 即肛门隐窝腺由于堵塞导致引流不畅而感染^[2,3]. 由于这些肛腺通向肛门括约肌复合体, 一旦感染, 脓液往往会沿着最薄弱的、阻力小的通路进行扩散, 可以积聚在任意一个肛周解剖间隙(皮下、黏膜下、括约肌间、坐骨直肠窝及肛提肌上方). 其他一些显著的原因也会导致肛周脓肿甚至复杂性脓肿的发生, 包括: 炎症性肠病、真菌感染、肿瘤、外伤等.

通常我们会根据脓肿的位置来对肛周脓肿进行分类, 包括皮下脓肿、坐骨直肠窝脓肿、括约肌间脓肿及肛提肌上脓肿, 皮下脓肿是最常见的也是最简单的一种, 脓液局限在肛周皮下组织, 离肛缘很近, 比较容易处理, 坐骨直肠窝脓肿相对较深, 脓液积聚在坐骨直肠窝, 并常常经过直肠后深间隙侵犯到对侧的坐骨直肠窝, 形成马蹄形脓肿, 括约肌间脓肿经常比较难诊断是由于他贴近肛管较深的位置, 局限在内外括约肌间隙内, 往往需要一些辅助检查来协助诊断, 至于肛提肌上方脓肿相对比较罕见, 一部分是其他位置的脓肿扩散而致. 一项研究将超过1000例肛周脓肿患者进行分型, 皮下脓肿占42.7%, 坐骨直肠窝脓肿占22.7%, 括约肌间脓肿占21.4%, 肛提肌上脓肿占7.33%^[4].

1 超声及MRI在肛周脓肿术前诊断中的重要性

对于位置较低的单纯脓肿, 因症状及局部体征较为明显, 故可以通过局部触诊等来确诊, 而对于复发性脓肿或深部脓肿(直肠后深间隙脓肿、肛提肌上方脓肿等), 则需要通过超声或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)来帮助明确脓腔的深度、侵犯的范围以及是否存在内口, 帮助手术者选择最佳的手术入路. 近年来随着三维腔内超声的应用, 在肛肠疾病中的诊断起到了巨大的作用, 能很好地显示肛管及肛门括约肌复合体, 尤其是对肛管直肠环周围的病变有很好的分辨能力, 但对于肛提肌以上的病变分辨能力有所下降^[5]. 而MRI由于具有极好的软组织分辨力, 故渐渐成为评估肛周脓肿及肛瘘的金标准^[6-8]. 比较著名的是St James'大学医院MRI成像分级, 其对肛瘘及肛周脓肿的分型是基于Parks分类, 并

增加了支管及伴发脓肿的因素, 一共分为6级, 0级代表正常的肛管结构, 1级代表简单的括约肌间瘘, 2级代表括约肌间瘘伴有分支或脓肿, 3级代表简单的经括约肌瘘, 4级代表复杂的经括约肌瘘伴有分支或脓肿, 5级代表高位复杂性瘘管(括约肌上方瘘、括约肌外瘘及肛提肌上瘘), 皮下瘘未被列入进分级. 而用MRI诊断肛瘘, 除了能显示瘘管的走向, 对肛瘘诊断的正确率能达到90%-93%^[9]. 特别对于复发性脓肿和肛提肌上脓肿, MRI有助于定位, 以帮助选择最佳手术入路^[10]. West等^[11]报道, 应用三维直肠腔内超声及MRI直肠腔内线圈检测具有相同的准确率, 内口的准确率达到86%. 但相较于MRI, 超声的优势是更方便的操作及更低的医疗花费, 可以作为诊断肛周脓肿及肛瘘的首选方法.

2 肛周脓肿手术治疗面临的问题

2.1 肛周脓肿手术切口及入路的选择 因肛门直肠周围的解剖结构复杂, 故形成的肛周脓肿种类很多, 所以手术治疗的关键是要对肛管直肠及周围间隙的解剖有充分了解^[12,13]. 理论上引流切口应为放射状切口, 且不能离肛缘太近, 否则容易切断括约肌, 若切断的括约肌组织过多, 则会损伤肛门功能. 对于脓肿范围广泛的, 可做多个放射状切口或是弧形切口便于引流. 但有时候切口位置的选择, 对术后肛瘘形成的走向有决定性意义, 比如对于马蹄形脓肿, 我们可以选择切口的位置靠近后角, 两侧波及至坐骨直肠窝的脓腔可予以充分搔刮及引流, 使脓腔炎症吸收, 后期形成的瘘管长度变短, 方便二次肛瘘手术. 另外我们可以根据术前肛周脓肿评估的类型, 来决定手术入路方式^[14], 皮下及坐骨直肠窝脓肿, 可选择肛周的线形或椭圆形切口, 放射状或与肛门括约肌纤维呈平行, 不同部位的括约肌间脓肿, 推荐通过内括约肌切断术来经肛内引流, 对于肛提肌上方的脓肿, 如果肛提肌是完整的, 则从直肠内引流来避免肛瘘的形成, 如果脓液肛提肌侵犯到坐骨直肠窝, 则需经坐骨直肠窝引流脓液, 并有必要放置引流装置几日, 达到彻底引流的目的. 好的手术入路的选择, 不仅能更有效地引流脓腔, 还能避免正常组织不必要的损伤, 简化瘘管的复杂性^[15]. Yano等^[16]做了一项关于肛周脓肿初次引流术后复发的相关因素的研究, 认为越早的及时处理肛周脓肿, 会降低术后复发率, 不合适的引流是导致再次手术的主要原因. Onaca等^[17]认为不合适的切口, 引

■ 研发前沿

目前对于肛周脓肿的诊断, 尤其是深部或广泛的脓肿, 常借助超声或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)来帮助明确脓腔的深度、侵犯的范围以及是否存在内口, 帮助手术者选择最佳的手术切口及入路, 而手术的方式通常是切开引流或一次性根治术. 目前的争议是如何在脓肿的复发、瘘管形成及肛门括约肌功能维护方面找到更好的处理方法.

■相关报道

West等报道,应用三维直肠腔内超声及MRI直肠腔内线圈检测具有相同的准确率,内口的准确率达到86%。另一项荟萃分析纳入了6项RCT临床研究,共计479例受试者,结果显示相对于单纯的肛周脓肿切开引流,主张在切开引流基础上再处理原发性瘘管,能有效地降低脓肿的复发、脓肿的持续状态或形成肛瘘及再次手术的问题,但在术后括约肌功能的问题上,存在一定的影响。

流不通畅是导致肛周脓肿在术后10 d内复发的主要原因。Tan等^[18]评估了一种新方法在直肠后深间隙脓肿的治疗,结果显示这种经括约肌间的处理方法总有效率达到70.6%。

2.2 肛周脓肿的手术方式选择-分期手术,还是一次根治术 对于肛周脓肿,到底是分次手术还是一次根治,长期以来都是研究者争论的话题。对于不同类型的肛周脓肿,采取何种有效的治疗手段,也在一直探索中。传统肛周脓肿的手术就是简单的切开引流,但术后随访的结果却令人不太满意,急性肛周脓肿的复发率在10%,形成肛瘘的概率则达到50%^[19],值得注意的是,20%的肛周脓肿在1年后复发,67%的患者最终会在1 mo内形成肛瘘^[20]。一项荟萃分析纳入了6项RCT临床研究,共计479例受试者,结果显示相对于单纯的肛周脓肿切开引流,主张在切开引流基础上再处理原发性瘘管,能有效地降低脓肿的复发、脓肿的持续状态或形成肛瘘及再次手术的问题,但在术后括约肌功能的问题上,存在一定的影响。其中Ho等^[21]研究显示,肛周脓肿一次性根治术后会有短暂的肛管静息压下降,但没有大便失禁的表现,并且在3 mo后恢复。Oliver等^[22]发现高位经括约肌脓肿及括约肌上方脓肿单纯引流后,随访半年内,有3%的患者出现短暂性大便失禁(气体不能自制),1年后症状消失,而在引流加瘘管切除术组,随访1年,有15%的患者出现过短暂大便失禁,1年后仍不能恢复肛门功能的有6%,表现为气体或液体不能自制。Hebjørn等^[23]报道脓肿一次性根治术后出现大便失禁的比例为8/20。Benjelloun等^[24]在一项长达6年的随访中发现,肛周脓肿单纯引流的术后复发率为88%,明显高于引流加瘘管切除术的复发率4%,但大便失禁的发生率则要低于肛周脓肿一次性根治术(1% vs 5%)。另外对于1次性根治的手术,应推荐有经验的术者,尽量避免假道、功能损伤及复发等情况的发生。

2.3 肛周脓肿的引流技术 引流技术作为外科手术最基本的方法之一,虽不能代替手术,但正确的引流,会使手术更趋完美。传统的纱条、引流管,包括传统中医自古以来治疗化脓性疾病使用的药捻(材质为桑皮纸、丝棉纸等),材料相对简单,使用方便,对于范围小、较浅的脓腔效果较好,但对于脓腔深而大的高位肛周脓肿,普通的纱条或药捻过细过软,且更换时因位置过高,很难达到脓腔底部,不能充分引流。近年来随着VSD等负压引流装置的出现,将引流的概念从被

动引流变成了主动引流,引流的技术更趋成熟。

VSD负压引流术作为一种处理浅表创面和用于深部引流的全新方法,是外科治疗技术的革新,自上世纪90年代从德国引进后^[25],因操作简便,无不良反应,受到越来越多的患者接受,术后患者无需限制体位,不需每天换药,可适度自由活动,生物半透膜具有透气性,从创面吸走渗出,帮助建立创面液体平衡,提供一个湿润的环境,清除坏死组织,减少创面的细菌数量,减轻水肿,增加创面血流,通过增加毛细血管充盈^[26]。在一项回顾性的研究中发现^[27],应用负压引流辅助治疗,有助于创面的引流及愈合。目前国内已经将这一技术应用到肛肠疾病的术后治疗,包括肛周深部脓肿引流及复杂性瘘管切除术后创面的恢复。此外对于非腺源性感染的肛周脓肿,或内口不明显的脓肿,充分的冲洗和引流,可以达到愈合的效果,即使不能痊愈最终形成瘘管的话,也能达到化繁为简、变深为浅的目的,便于形成肛瘘后的手术治疗。国内一些研究者认为应用负压吸引治疗深部肛周脓肿,能保证脓腔内分泌物及时引流,防止分泌物和坏死组织积聚在脓腔内结痂堵塞引流,并减少细菌繁殖的机会,能有效地缩短治疗时间,减轻换药时给患者带来的疼痛不适^[28-30]。部分研究还发现较传统切开引流术,负压引流治疗肛周脓肿,能降低术后脓肿复发率及肛瘘形成率^[31,32]。目前来说,负压引流技术已经在治疗肛肠疾病中取得了一定的效果,但还属于起步阶段,故还需进一步探索,以求证其疗效的确切性。

2.4 肛周脓肿的抗生素治疗 在围手术期的处理,抗生素的应用应根据患者的个体情况而定,而不是作为常规使用。Yano等^[16]认为,越早发现及时处理肛周脓肿,会降低术后复发率,并且不建议术前对肛周脓肿进行抗生素干预,这样会耽误手术的时机,并且会导致术后脓肿复发。另外抗生素在非复杂性肛周脓肿治疗过程中的作用较为有限,有研究显示^[33-35],他们不能缩短治愈时间及减少复发率,但患有糖尿病、严重蜂窝组织炎、免疫力低下或合并全身性疾病的患者,可考虑术后合并使用抗生素。

3 小儿肛周脓肿的治疗

小儿肛周脓肿与成人最大的不同点在于,小儿肛周脓肿(肛瘘)存在自然愈合的倾向,其形成与其体内的雄激素水平一过性升高有关,当雄性激素水平生理性地下降时,分泌旺盛的肛腺

亦随之萎缩、消失,故内口可自然愈合^[36,37]。小儿肛周脓肿或肛瘘的发病率,男性明显高于女性^[38,39]。在研究报道^[40],小儿肛周脓肿(肛瘘)的高发病率与早期直肠黏膜屏障机能不全有关,出生后2 wk黏膜分泌sIgA缺如,3-4 wk肠绒毛形成,IgA出现,1岁达正常状态。故小儿肛周脓肿(肛瘘)的好发月龄(出生后1-2 mo)恰是黏膜免疫功能最薄弱期,1岁后发病锐减或能自行痊愈^[41]。目前治疗婴幼儿肛周脓肿的最佳治疗方法仍不能达成共识,故在处理婴幼儿肛周脓肿时,选择何种方法治疗往往取决于医生的个人喜好。一些学者主张在治疗小儿肛周脓肿时,仔细探查脓腔,瘘管明确则处理瘘管^[42,43],另一些学者则支持保守的处理手段,即对脓腔进行自然的引流,并结合坐浴保持局部清洁^[44,45],包括使用bFGF喷雾剂等新方法治疗^[46]。一项临床研究显示^[47],67%的婴幼儿肛周脓肿最终不会发展成肛瘘,而17.3%的小儿肛瘘患者会自愈,根据情况应用抗生素,会降低小儿肛瘘的形成,所以认为过早的外科手术干预不是一个明智的选择。Christison-Lagay等^[44]同样认为使用抗生素能最大化的降低小儿肛瘘的形成。有学者^[48,49]认为对于超过2岁的儿童,治疗可以参照成年人肛周脓肿(肛瘘)的方法,因为很少有复杂性的肛周脓肿或肛瘘,所以处理较为简单。而且新生儿肛瘘绝大多数是括约肌间瘘,这意味着切开瘘管不会导致大便失禁^[50]。就目前来说,对于婴幼儿急性肛周脓肿进行简单的切开引流加上适当的抗生素应用会是比较合理的方法。

4 结论

长期以来,对于肛周脓肿的治疗主要围绕着如何降低术后复发率、术后成瘘率及避免损伤肛门功能、防止大便失禁的发生。但对于一些手术的方式还存在着一些争议,这就需要更大的样本,进行前瞻性、随机、对照的研究。另外随着微创外科的发展,设计具有手术创伤小,术式简化,术后疗效确切的手术方法,是今后需要不断研究的方向。相信随着诊断技术的不断提高,能更精确的指导术者选择最佳的切口位置及手术入路,避免盲目的操作导致脓肿的复杂化和肛门功能的损伤。

5 参考文献

- Shrum RC. Anorectal pathology in 1000 consecutive patients with suspected surgical disorders. *Dis Colon Rectum* 1959; 2: 469-472 [PMID: 14446233 DOI: 10.1007/BF02616939]
- Eisenhammer S. The internal anal sphincter and the anorectal abscess. *Surg Gynecol Obstet* 1956; 103: 501-506 [PMID: 13360660]
- Goligher JC, Ellis M, Pissidis AG. A critique of anal glandular infection in the aetiology and treatment of idiopathic anorectal abscesses and fistulas. *Br J Surg* 1967; 54: 977-983 [PMID: 6066322 DOI: 10.1002/bjs.1800541202]
- Ortiz H, Marzo M, de Miguel M, Ciga MA, Oteiza F, Armendariz P. Length of follow-up after fistulotomy and fistulectomy associated with endorectal advancement flap repair for fistula in ano. *Br J Surg* 2008; 95: 484-487 [PMID: 18161890 DOI: 10.1002/bjs.6023]
- Etienney I, de Parades V. Three-dimensional endoanal ultrasonography in daily proctological practice. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 260-270 [PMID: 21393087 DOI: 10.1016/j.clinre.2010.10.009]
- Williams JG, Farrands PA, Williams AB, Taylor BA, Lunness PJ, Sagar PM, Varma JS, George BD. The treatment of anal fistula: ACPGBI position statement. *Colorectal Dis* 2007; 9 Suppl 4: 18-50 [PMID: 17880382 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2007.01372.x]
- Gage KL, Deshmukh S, Macura KJ, Kamel IR, Zaheer A. MRI of perianal fistulas: bridging the radiological-surgical divide. *Abdom Imaging* 2013; 38: 1033-1042 [PMID: 23242265 DOI: 10.1007/s00261-012-9965-4]
- Li X, Qiang JW, He C, Ji XS, Zhang B. [Magnetic resonance imaging study of perianal abscess]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2011; 14: 868-870 [PMID: 22116722]
- Al-Khawari HA, Gupta R, Sinan TS, Prakash B, Al-Amer A, Al-Bolushi S. Role of magnetic resonance imaging in the assessment of perianal fistulas. *Med Princ Pract* 2005; 14: 46-52 [PMID: 15608481 DOI: 10.1159/000081923]
- 孙桂东, 杨柏霖, 陈玉根, 祝新. 磁共振成像在深部肛周脓肿诊断中的应用. *中华消化外科杂志* 2010; 9: 210-212
- West RL, Zimmerman DD, Dwarkasing S, Hussain SM, Hop WC, Schouten WR, Kuipers EJ, Felt-Bersma RJ. Prospective comparison of hydrogen peroxide-enhanced three-dimensional endoanal ultrasonography and endoanal magnetic resonance imaging of perianal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1407-1415 [PMID: 14530683 DOI: 10.1097/01.DCR.0000089112.99927.60]
- Nelson R. Anorectal abscess fistula: what do we know? *Surg Clin North Am* 2002; 82: 1139-1151, v-vi [PMID: 12516844 DOI: 10.1016/S0039-6109(02)00063-4]
- Whiteford MH, Kilkenny J, Hyman N, Buie WD, Cohen J, Orsay C, Dunn G, Perry WB, Ellis CN, Rakinic J, Gregorczyk S, Shellito P, Nelson R, Tjandra JJ, Newstead G. Practice parameters for the treatment of perianal abscess and fistula-in-ano (revised). *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1337-1342 [PMID: 15933794 DOI: 10.1007/s10350-005-0055-3]
- Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Sailer M, Schiedeck T. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 831-837 [PMID: 22362468 DOI: 10.1007/s00384-012-1430-x]
- Millan M, García-Granero E, Esclápez P, Flor-Lorente B, Espí A, Lledó S. Management of intersphincteric abscesses. *Colorectal Dis* 2006; 8: 777-780 [PMID: 17032324]

■创新盘点

对于肛周脓肿的诊断,超声或MRI能很好地明确脓腔的深度、侵犯的范围以及是否存在内口,并且能达到较高的准确率。在治疗中,合适的的手术入路是有效治疗肛周脓肿的关键,对于小儿肛周脓肿,合适的手术时机则是关键。

■应用要点

本文对肛周脓肿的术前影像学诊断以及手术中的几个问题进行了综述,为肛周脓肿的外科治疗提供了指导。

- DOI: 777-8010.1111/j.1463-1318.2006.01035.x]
- 16 Yano T, Asano M, Matsuda Y, Kawakami K, Nakai K, Nonaka M. Prognostic factors for recurrence following the initial drainage of an anorectal abscess. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1495-1498 [PMID: 20640431 DOI: 10.1007/s00384-010-1011-9]
 - 17 Onaca N, Hirshberg A, Adar R. Early reoperation for perirectal abscess: a preventable complication. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1469-1473 [PMID: 11598476 DOI: 10.1007/BF02234599]
 - 18 Tan KK, Koh DC, Tsang CB. Managing Deep Postanal Space Sepsis via an Intersphincteric Approach: Our Early Experience. *Ann Coloproctol* 2013; 29: 55-59 [PMID: 23700571 DOI: 10.3393/ac.2013.29.2.55]
 - 19 Ramanujam PS, Prasad ML, Abcarian H, Tan AB. Perianal abscesses and fistulas. A study of 1023 patients. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 593-597 [PMID: 6468199 DOI: 10.1007/BF02553848]
 - 20 Hämäläinen KP, Sainio AP. Incidence of fistulas after drainage of acute anorectal abscesses. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1357-1361; discussion 1361-1362 [PMID: 9823799 DOI: 10.1007/BF02237048]
 - 21 Ho YH, Tan M, Chui CH, Leong A, Eu KW, Seow-Choen F. Randomized controlled trial of primary fistulotomy with drainage alone for perianal abscesses. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 1435-1438 [PMID: 9407981 DOI: 10.1007/BF02070708]
 - 22 Oliver I, Lacueva FJ, Pérez Vicente F, Arroyo A, Ferrer R, Cansado P, Candela F, Calpena R. Randomized clinical trial comparing simple drainage of anorectal abscess with and without fistula track treatment. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 107-110 [PMID: 12548410 DOI: 10.1007/s00384-002-0429-0]
 - 23 Hebjørn M, Olsen O, Haakansson T, Andersen B. A randomized trial of fistulotomy in perianal abscess. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 174-176 [PMID: 3554492]
 - 24 Benjelloun EB, Jarrar A, El Rhazi K, Souiki T, Ousadden A, Ait Taleb K. Acute abscess with fistula: long-term results justify drainage and fistulotomy. *Updates Surg* 2013; 65: 207-211 [PMID: 23784672 DOI: 10.1007/s13304-013-0218-z]
 - 25 Fleischmann W, Strecker W, Bombelli M, Kinzl L. [Vacuum sealing as treatment of soft tissue damage in open fractures]. *Unfallchirurg* 1993; 96: 488-492 [PMID: 8235687]
 - 26 Chen SZ, Li J, Li XY, Xu LS. Effects of vacuum-assisted closure on wound microcirculation: an experimental study. *Asian J Surg* 2005; 28: 211-217 [PMID: 16024319 DOI: 10.1016/S1015-9584(09)60346-8]
 - 27 Vikatmaa P, Juutilainen V, Kuukasjärvi P, Malmivaara A. Negative pressure wound therapy: a systematic review on effectiveness and safety. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 36: 438-448 [PMID: 18675559 DOI: 10.1016/j.ejvs.2008.06.010]
 - 28 郑伟琴, 颜景颖, 姜雨昕, 宋乃忠, 张大景. 小切口负压球引流术治疗高位肛周脓肿的研究. *现代中西医结合杂志* 2010; 27: 3416-3417
 - 29 姚健, 刘纪锋, 王顺和, 牛苏剑, 王玉, 穆云. 腔内置管冲洗加负压引流治疗肛周脓肿的临床疗效观察. *结直肠肛门外科* 2012; 18: 383-385
 - 30 章蓓, 金黑鹰, 张庆伟, 樊志敏, 丁义江, 王小峰, 何勇山. 双套管引流治疗高位肛周脓肿48例体会. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 987-988
 - 31 毕恩旭, 范军伟, 王京涛, 王爱华, 肖洪华. 自制负压双套管配合中药冲洗, 引流术治疗高位肛周脓肿的临床研究. *世界中西医结合杂志* 2010; 5: 435-436
 - 32 王伟雄, 冯骏, 汪普宁. 小切口负压封闭引流技术治疗较大急性肛周深部脓肿. *广东医学* 2010; 31: 363-364
 - 33 Llera JL, Levy RC. Treatment of cutaneous abscess: a double-blind clinical study. *Ann Emerg Med* 1985; 14: 15-19 [PMID: 3880635]
 - 34 Stewart MP, Laing MR, Krukowski ZH. Treatment of acute abscesses by incision, curettage and primary suture without antibiotics: a controlled clinical trial. *Br J Surg* 1985; 72: 66-67 [PMID: 3881155]
 - 35 Macfie J, Harvey J. The treatment of acute superficial abscesses: a prospective clinical trial. *Br J Surg* 1977; 64: 264-266 [PMID: 322789 DOI: 10.1002/bjs.1800640410]
 - 36 Fitzgerald RJ, Harding B, Ryan W. Fistula-in-ano in childhood: a congenital etiology. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 80-81 [PMID: 4038741 DOI: 10.1016/S0022-3468(85)80399-7]
 - 37 Poenaru D, Yazbeck S. Anal fistula in infants: etiology, features, management. *J Pediatr Surg* 1993; 28: 1194-1195 [PMID: 8308691 DOI: 10.1016/0022-3468(93)90163-F]
 - 38 Serour F, Somekh E, Gorenstein A. Perianal abscess and fistula-in-ano in infants: a different entity? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 359-364 [PMID: 15616754 DOI: 10.1007/s10350-004-0844-0]
 - 39 Serour F, Gorenstein A. Characteristics of perianal abscess and fistula-in-ano in healthy children. *World J Surg* 2006; 30: 467-472 [PMID: 16467979 DOI: 10.1007/s00268-005-0415-0]
 - 40 al-Salem AH, Qaisaruddin S, Qureshi SS. Perianal abscess and fistula in ano in infancy and childhood: a clinicopathological study. *Pediatr Pathol Lab Med* 1996; 16: 755-764 [PMID: 9025874 DOI: 10.1080/107710496175372]
 - 41 Barthés-Anidjar L, Wolter M, Bodemer C, Gounod N, Koulouris E, De Prost Y. [Perianal abscess in infant]. *Ann Dermatol Venereol* 2003; 130: 357-360 [PMID: 12746675]
 - 42 Murthi GV, Okoye BO, Spicer RD, Cusick EL, Noble HR. Perianal abscess in childhood. *Pediatr Surg Int* 2002; 18: 689-691 [PMID: 12598965 DOI: 10.1007/s00383-002-0761-z]
 - 43 Novotny NM, Mann MJ, Rescorla FJ. Fistula in ano in infants: who recurs? *Pediatr Surg Int* 2008; 24: 1197-1199 [PMID: 18704449 DOI: 10.1007/s00383-008-2236-3]
 - 44 Christison-Lagay ER, Hall JF, Wales PW, Bailey K, Terluk A, Goldstein AM, Ein SH, Masiakos PT. Nonoperative management of perianal abscess in infants is associated with decreased risk for fistula formation. *Pediatrics* 2007; 120: e548-e552 [PMID: 17682038 DOI: 10.1542/peds.2006-3092]
 - 45 Abbott MB. Surgeons say no to surgery for perianal abscesses in infants. *Pediatrics* 2007; 120: 646 [PMID: 17766538 DOI: 10.1542/peds.2007-1295]
 - 46 Kubota M, Hirayama Y, Okuyama N. Usefulness of bFGF spray in the treatment of perianal abscess and fistula-in-ano. *Pediatr Surg Int* 2010; 26: 1037-1040 [PMID: 20632016 DOI: 10.1007/s00383-010-2664-8]
 - 47 Afşarlar CE, Karaman A, Tanır G, Karaman I, Yılmaz E, Erdoğan D, Maden HA, Cavuşoğlu YH, Özgüner IF. Perianal abscess and fistula-in-ano in children: clinical characteristic, management and outcome. *Pediatr Surg Int* 2011; 27: 1063-1068 [PMID: 21785979 DOI: 10.1007/s00383-011-2956-7]
 - 48 Charalampopoulos A, Zavras N, Kapetanakis EI,

- Kopanakis K, Misiakos E, Patapis P, Martikos G, Machairas A. Surgical treatment of perianal abscess and fistula-in-ano in childhood, with emphasis in children older than 2 years. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 2096-2100 [PMID: 23164005 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2012.06.032]
- 49 Ezer SS, Oğuzkurt P, Ince E, Hiçsönmez A. Perianal

- abscess and fistula-in-ano in children: aetiology, management and outcome. *J Paediatr Child Health* 2010; 46: 92-95 [PMID: 20105258 DOI: 10.1111/j.1440-1754.2009.01644.x]
- 50 Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63: 1-12 [PMID: 1267867]

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价

本文对肛周脓肿的术前影像学诊断以及手术中的几个问题进行了综述, 文献依据较翔实, 观点客观, 为肛周脓肿的外科治疗提供了指导, 具有一定实用价值。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)

调节肝纤维化模型大鼠TGF- β 1表达探讨雷帕霉素改善肝纤维化的相关性

颜文贞, 钟志宏, 戴璟, 戴东, 陈土明, 胡祖超

■背景资料

肝纤维化主要涉及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)及转移生长因子 β 1(transformation growth factor β 1, TGF- β 1)等诸多因素影响而成。如何有效的预防及治疗肝纤维化导致的慢性肝损伤, 是肝病研究者们亟待解决的问题。本研究显示肝纤维化病变是可以控制及可治疗的。

颜文贞, 广东医学院护理学院基础护理教研室 广东省东莞市 523808

钟志宏, 戴璟, 戴东, 陈土明, 胡祖超, 广东医学附属医院肝胆外科 广东省湛江市 524001

颜文贞, 副教授, 主要从事临床医学及基础医学的相关研究。

湛江市2012年度财政资金科技专项竞争性基金资助项目, No. 2012C0302

作者贡献分布: 本课题由戴东、颜文贞及钟志宏共同设计; 研究过程由颜文贞、钟志宏及戴璟完成; 数据分析由陈土明与胡祖超完成; 本论文撰写由戴东、陈土明及胡祖超完成。

通讯作者: 戴东, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 524001, 广东省湛江市人民大道南57号, 广东医学附属医院肝胆外科。

daidong2008@126.com

电话: 0759-2387417

收稿日期: 2013-08-12 修回日期: 2013-09-17

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Correlation between TGF- β 1 expression and rapamycin-induced liver fibrosis improvement in rats

Wen-Zhen Yan, Zhi-Hong Zhong, Jing Dai, Dong Dai, Tu-Ming Chen, Zu-Chao Hu

Wen-Zhen Yan, Department of Basic Nursing, School of Nursing, Guangdong Medical College, Dongguan 523808 Guangdong Province, China

Zhi-Hong Zhong, Jing Dai, Dong Dai, Tu-Ming Chen, Zu-Chao Hu, Department of Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, Guangdong Province, China

Supported by: the 2012 Science and Technology Project of Zhanjiang, No. 2012C0302

Correspondence to: Dong Dai, Professor, Chief Physician, Department of Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, 57 Renmin Dadao, Zhanjiang 524001, Guangdong Province, China. daidong2008@126.com

Received: 2013-08-12 Revised: 2013-09-17

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To investigate the role of transformation growth factor- β 1 (TGF- β 1) in the therapeutic effect of rapamycin on liver fibrosis in rats.

METHODS: Rats were divided into three groups: a normal control group, a liver fibrosis model group and a rapamycin treatment group. Rats were treated with carbon tetrachloride to induce liver fibrosis. Eight weeks after treat-

ment, liver histological changes and the expression of TGF- β 1 in the liver were detected. In addition, serum TGF- β 1 levels were dynamically monitored.

RESULTS: After immunohistochemical and HE staining, image-pro plus 6 image analysis software was used to analyze the integrated absorbance (IA). The IA values were 9891.4 ± 1725.7 , 104239.9 ± 20890.6 , and 27853.6 ± 2031 in the normal control group, liver fibrosis model group and rapamycin treatment group, respectively. The expression of TGF- β 1 in liver tissue was significantly different among the three groups ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Rapamycin can significantly reduce the levels of TGF- β 1 in liver tissue and serum, which may be involved in the therapeutic effect of rapamycin on liver fibrosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Rapamycin; TGF- β 1

Yan WZ, Zhong ZH, Dai J, Dai D, Chen TM, Hu ZC. Correlation between TGF- β 1 expression and rapamycin-induced liver fibrosis improvement in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3848-3852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3848.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3848>

摘要

目的: 研究雷帕霉素调节肝纤维化模型大鼠转化生长因子 β 1(transformation growth factor β 1, TGF- β 1)的表达, 改善肝纤维化的相关作用。

方法: 应用大鼠以四氯化碳油(CCl_4 花生油)诱导建立肝纤维化模型, 具体分成正常对照组、肝纤维化模型组、RAPA组, 饲养8 wk后观察动物肝脏组织形态学改变及TGF- β 1在肝组织的表达。在动物饲养过程中动态地测定肝纤维化进程中血清TGF- β 1水平的变化。

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

结果: 3组大鼠肝组织切片经HE及免疫组织化学染色后, 图片经Image-pro plus 6.0图像分析软件整理. A(IA值 9891.4 ± 1725.7)、B(IA值为 104239.9 ± 20890.6)、C(IA值为 27853.6 ± 2031). 3组大鼠肝组织切片中TGF- β 1表达呈显著性差异, 具有统计学意义($P < 0.01$).

结论: 雷帕霉素具有显著的下调肝脏组织中TGF- β 1表达及下调血清TGF- β 1水平, TGF- β 1表达下调与改善肝纤维化变有平行关系.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝纤维化; 雷帕霉素; 转移生长因子 β 1

核心提示: 随着肝纤维化模型的建立, 证实模型组中肝组织及血清中的转化生长因子 β 1(transformation growth factor β 1, TGF- β 1)随着模型的建立进展时间延长而逐渐升高. 应用雷帕霉素(rapamycin, RAPA)治疗后, TGF- β 1表达明显降低, 从组织形态学印证了雷帕霉素组的肝脏组织纤维化明显较模型组要轻. 研究显示RAPA确能通过调节TGF- β 1因子的表达改善肝脏纤维化病变.

颜文贞, 钟志宏, 戴璟, 戴东, 陈士明, 胡祖超. 调节肝纤维化模型大鼠TGF- β 1表达探讨雷帕霉素改善肝纤维化的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3848-3852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3848.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3848>

0 引言

肝纤维化是由于各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生, 主要涉及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)度沉淀、肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化及增殖及转移生长因子 β 1(transformation growth factor β 1, TGF- β 1)过度表达等诸多因素影响而成. 雷帕霉素(rapamycin, RAPA)大环内酯类免疫抑制剂^[1,2], 他能阻断磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)/雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)细胞通路, 具有抑制细胞分化和增殖功能^[3,4]. 本实验拟研究应用雷帕霉素治疗肝纤维化的作用. 具体观察肝脾组织病理改变、TGF- β 1在肝脏组织的表达以及肝纤维化进展中血清TGF- β 1的水平, 探讨RAPA在肝纤维化进展中的作用及其相关意义.

1 材料和方法

1.1 材料 成年健康♂SD大鼠30只, 体质量

200-250 g, 由广东医学院动物实验中心提供, 清洁级动物. 大鼠合格证编码: 44006400000013. 应用四氯化碳油(CCl_4 花生油)诱导建立肝纤维化模型, 以3 mL/kg剂量皮下注射体积浓度为40%的 CCl_4 油溶液, 2次/wk, 连续8 wk^[5].

1.2 方法

1.2.1 实验: 30只SD大鼠随机分为3组: 正常对照组(A组)、肝纤维化模型组(B组)、雷帕霉素组(C组), 每组10只. B、C组于6 wk前都按前述方法建立肝纤维化模型, 其中的C组于第6周予雷帕霉素2 mg/kg体质量灌胃治疗, 1次/d, 持续2 wk. A、B组按同剂量予生理盐水灌胃, 1次/d, 持续2 wk. 各组大鼠分别于第3、6、8周从眼眶内眦静脉取血1 mL, 室温凝固30 min后, 2 °C-8 °C放置24 h; 1500 r/min离心15 min, 取血清-80 °C冰冻保存待检.

1.2.2 指标观察: 组织形态学观察; HE染色后显微镜下观察; ELISA试剂盒检测血清TGF- β 1浓度(大鼠TGF- β 1双抗试剂盒, 由上海基尔顿生物技术有限公司提供); 组织中TGF- β 1应用免疫组织化学法, 每张切片取5个视野测定TGF- β 1阳性反应产物的积分光密度(integral optical density, IA)表示组织TGF- β 1的表达水平, IA值越大表示阳性表达越强. 利用Image-pro plus 6.0图像分析软件处理相片.

统计学处理 使用SPSS17.0统计软件处理数据. 计量资料用mean \pm SD表示. 组间差异采用单因素方差分析(ANOVA)进行统计分析, 组间两两比较用最小显著性差异(LSD- t)进行统计学检验, $P < 0.05$ 为差异有统计意义.

2 结果

2.1 肝纤维化的病理形态学改变 肝脏组织病理切片HE染色, 显微镜下观察: 正常对照组肝细胞沿中央小静脉放射状整齐排列, 肝细胞正常. 肝纤维化模型组肝脏组织呈混合滴性脂肪变, 肝细胞体积增大, 排列紊乱, 小叶间静脉扩张, 部分小叶中央静脉缺如, 或纤维间隔明显增生, 蜿蜒曲折行向中央静脉方向, 可见碎片状坏死区出现在门管区周围或隔周围, 内含成纤维细胞, 炎症细胞浸润, 小胆管增生, 部分纤维间隔穿插包绕肝细胞. 肝纤维化大鼠应用雷帕霉素组亦呈现肝纤维化大鼠为模型组形态学改变, 肝脏组织内纤维框架明显减少, 肝组织形态较肝纤维化大鼠为模型组有明显改善(图1).

2.2 肝组织TGF- β 1的表达 经免疫组织化学染色

■研发前沿 雷帕霉素(rapamycin, RAPA)他通过阻断PI3K/AKT/mTOR细胞通路, 具有抑制TGF- β 1在肝脏组织内的表达, 改善肝纤维化病变的进程. 应用RAPA治疗肝纤维化在相关研究中尚未有类似报道.

■相关报道

王博等转化生长因子1在不同疾病脾功能亢进患者脾组织中的表达及意义. Shek等报道称细胞因子中只有TGF- β 1能活化HSC合成胶原纤维, 而其他细胞因子仅刺激HSC增殖, 通过TGF/ β 1-Smad信号通路进行调控ECM的沉积. Gao等报道显示雷帕霉素是PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂, 抑制其激酶活性, 阻断其细胞通路, 抑制细胞分化和增殖.

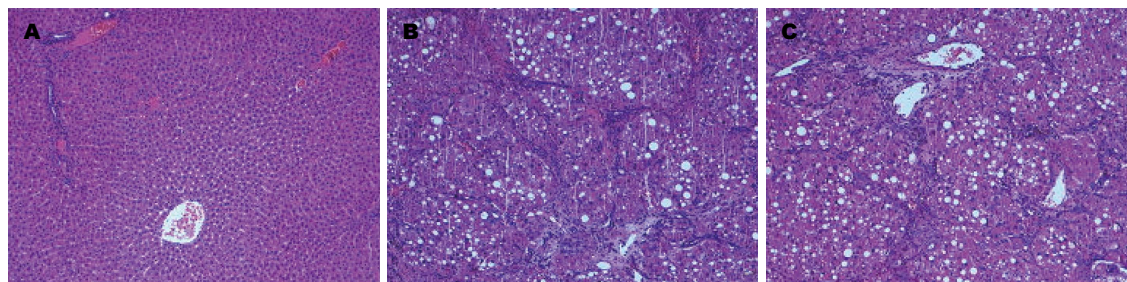


图1 第8周肝组织病理变化(IHE $\times 100$). A: 正常大鼠为对照组; B: 肝纤维化大鼠为模型组; C: 肝纤维化大鼠应用雷帕霉素组.

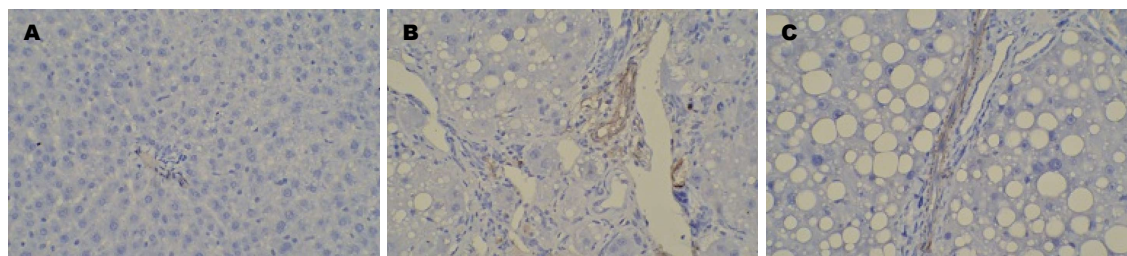


图2 实验动物肝组织中TGF- β 1的表达($\times 400$). A: 正常大鼠为对照组; B: 肝纤维化大鼠为模型组; C: 肝纤维化大鼠应用雷帕霉素组.

表1 实验动物肝组织中TGF- β 1的阳性反应产物的积分光密度表达

分组	3 wk	6 wk	8 wk
正常对照组	259.97 \pm 34.93	269.25 \pm 16.78	265.65 \pm 13.83
肝纤维化模型组	311.61 \pm 19.20	330.74 \pm 44.23	487.55 \pm 46.52
肝纤维化应用雷帕霉素组	306.29 \pm 67.15	323.28 \pm 38.47	434.53 \pm 24.65

后, 在胞浆内出现棕褐色颗粒表达为阳性. 正常对照组(图2A)显示肝脏组织极少表达TGF- β 1, 模型组(图2B)汇管区附近可见大量TGF- β 1表达, 可见明显纤维间隔. 雷帕霉素组(图2C)有不同程度的TGF- β 1阳性表达. 雷帕霉素组的TGF- β 1表达(27853.6 \pm 2031)与模型组(104239.9 \pm 20890.6)比较, 有明显差异($P < 0.01$), 雷帕霉素组的TGF- β 1表达(27853.6 \pm 2031)与正常对照组(9891.4 \pm 1725.7)比较, 有明显差异($P < 0.01$).

2.3 肝纤维化进展中血清TGF- β 1浓度的改变 在肝纤维化模型建立中, 各组血清TGF- β 1水平, 第3、6周时, B、C组血清TGF- β 1浓度, 组间无明显差异($P > 0.05$). 第8周时, 雷帕霉素组有非常明显降低($P < 0.01$)(表1).

3 讨论

肝硬化是临床常见的慢性进行性肝病, 由一种或多种病因持续或者反复作用形成弥漫性肝损害. 据世界卫生组织提供的数据, 近年来每年全世界死于肝硬化的人数已增加到50万. 在发达

国家, 肝硬化居死亡原因第5位, 仅次于恶性肿瘤、心血管疾病、脑血管病和意外事故. 研究者^[6-9]认为, 晚期肝硬化是不可逆转的, 而肝纤维化、甚至早期肝硬化是可逆转的, 尤其在当潜在的疾病被根除. 实验研究显示: 雷帕霉素(rapamycin, RAPA)是1999年美国FAD认定的一种新型大环内酯类免疫抑制剂, 他能阻断PI3K/AKT/mTOR细胞通路, 具有抑制细胞分化和增殖功能. 通过大量的动物实验已经证实雷帕霉素是一种安全有效的新型免疫抑制剂, 2010年雷帕霉素已经进入第III期临床试验, 更多的研究集中在他的器官移植抗排斥反应的作用. 近年来在肝纤维化形成机制中, TGF- β 1的作用逐渐被发现, 提出TGF- β 家族中尤以TGF- β 1在肝纤维化的发生发展中有着重要的作用, TGF- β 1与肝纤维化变呈正相关性^[10-17]. 本文实验通过建立CCL₄诱导的肝纤维化模型发现, 随着肝纤维化的建立, 证实模型组中肝组织及血清中的TGF- β 1随着模型的建立进展时间延长而逐渐升高, 明显高于正常对照组($P < 0.01$). 应用雷帕

霉素治疗后, TGF- β 1较模型组均有明显降低($P<0.01$), 从组织形态学也印证了雷帕霉素组的肝脏组织纤维化明显较模型组要轻. 实验证明雷帕霉素确能明显抑制肝脏纤维化, 但是其也具有一定不良反应, 如胃肠道反应、感染等. TGF- β 1是最强的促纤维化细胞因子之一, 在肝纤维化的研究中越来越多. Guyot等^[18]认为肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是成纤维细胞前体, 在慢性肝损伤时HSC活化转变为成纤维细胞, 分泌ECM、细胞因子和蛋白酶抑制剂等成分参与肝纤维化进展. 近年来越来越多的研究指出TGF- β 1能活化HSC, 促进肝纤维化进展^[19-22]. Shek等^[23]报道称细胞因子中只有TGF- β 1能活化HSC合成胶原纤维, 而其他细胞因子仅刺激HSC增殖, 通过TGF/Smad信号通路进行调控ECM的沉积. 在肝纤维化进展期中, 库否细胞(kupffer cell, KC)通过自分泌或旁分泌途径分泌大量TGF- β 1, 同时增加HSC上血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)受体表达, 通过自分泌循环分泌TGF- β 1和PDGF, 使HSC持续活化, 抑制其凋亡. 雷帕霉素是PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂, 抑制其激酶活性, 阻断其细胞通路, 抑制细胞分化和增殖^[24-26]. KC是固定在肝脏的巨噬细胞, 雷帕霉素阻断KC的PI3K/AKT/mTOR信号通路, 减少细胞因子肿瘤坏死因子- α 、TGF- β 1等释放, 抑制HSC增殖活化. 雷帕霉素亦可直接作用于HSC的Fas/FasL系统, 启动Fas/FasL凋亡通路, 上调P53、下调Bcl-2的表达实现HSC凋亡, 抑制增殖^[27,28]. 雷帕霉素治疗肝纤维化的作用机制是复杂的, 通过多途径、多靶点共同作用, 减轻炎症和纤维化. 因此, 关于肝脏纤维化的详细机制还有待于进一步研究.

4 参考文献

- Sanchez Antolín G, Garcia Pajares F, Lorenzo Pelayo S, Herranz Bachiller MT, Almohalla C, Velicia R, Caro Paton A. Indications and effectiveness of the mammalian target of rapamycin in liver transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43: 714-717 [PMID: 21486581 DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.01.105]
- Kahan BD. Two-year results of multicenter phase III trials on the effect of the addition of sirolimus to cyclosporine-based immunosuppressive regimens in renal transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 37S-51S [PMID: 12742466]
- Kurdián M, Herrero-Fresneda I, Lloberas N, Gimenez-Bonafe P, Coria V, Grande MT, Boggia J, Malacrida L, Torras J, Arévalo MA, González-Martínez F, López-Novoa JM, Grinyó J, Noboa O. Delayed mTOR inhibition with low dose of everolimus reduces TGF β expression, attenuates proteinuria and renal damage in the renal mass reduction model. *PLoS One* 2012; 7: e32516 [PMID: 22427849 DOI: 10.1371/journal.pone.0032516]
- Wu MJ, Wen MC, Chiu YT, Chiou YY, Shu KH, Tang MJ. Rapamycin attenuates unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Kidney Int* 2006; 69: 2029-2036 [PMID: 16732193]
- Constandinou C, Henderson N, Iredale JP. Modeling liver fibrosis in rodents. *Methods Mol Med* 2005; 117: 237-250 [PMID: 16118456]
- Li GM, Li DG, Fan JG, Xie Q. [Effect of silencing connective tissue growth factor on the liver fibrosis in rats]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2010; 18: 822-825 [PMID: 21138629]
- Tangkijvanich P, Yee HF. Cirrhosis--can we reverse hepatic fibrosis? *Eur J Surg Suppl* 2002; (587): 100-112 [PMID: 16144208]
- Henderson NC, Forbes SJ. Hepatic fibrogenesis: from within and outwith. *Toxicology* 2008; 254: 130-135 [PMID: 18824072 DOI: 10.1016/j.tox.2008.08.017]
- Rockey DC. Antifibrotic therapy in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 95-107 [PMID: 15704042]
- Milani S, Herbst H, Schuppan D, Stein H, Surrenti C. Transforming growth factors beta 1 and beta 2 are differentially expressed in fibrotic liver disease. *Am J Pathol* 1991; 139: 1221-1229 [PMID: 1750499]
- Presser LD, McRae S, Waris G. Activation of TGF- β 1 promoter by hepatitis C virus-induced AP-1 and Sp1: role of TGF- β 1 in hepatic stellate cell activation and invasion. *PLoS One* 2013; 8: e56367 [PMID: 23437118 DOI: 10.1371/journal.pone.0056367]
- Li H, Dong C, Cao T, Chang S. [Expression of ADAMTS-2 and TGF- β 1 in cirrhotic liver]. *Zhongnan Daxue Xuebao (Yixueban)* 2012; 37: 1026-1030 [PMID: 23117456 DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347]
- Bao JF, Shi JP, Xu S. [Dynamic expression of TGF- β 1/Smad protein in CCl₄-induced liver fibrosis and its significance in rats]. *Zhonghua Shiyian He Linchuangbing Duxue Zazhi* 2011; 25: 334-337 [PMID: 22338217]
- 王博, 王娟, 夏泽锋, 吴河水, 万赤丹, 王春友. 转化生长因子1在不同疾病脾功能亢进患者脾组织中的表达及其意义. *中国普通外科杂志* 2012; 21: 577-581
- Kim J, Kim CJ, Ko IG, Joo SH, Ahn HJ. Splenectomy affects the balance between hepatic growth factor and transforming growth factor- β and its effect on liver regeneration is dependent on the amount of liver resection in rats. *J Korean Surg Soc* 2012; 82: 238-245 [PMID: 22493765 DOI: 10.4174/jkss.2012.82.4.238]
- Morinaga A, Ogata T, Kage M, Kinoshita H, Aoyagi S. Comparison of liver regeneration after a splenectomy and splenic artery ligation in a dimethylnitrosamine-induced cirrhotic rat model. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 22-30 [PMID: 20495641 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2009.00116.x]
- Ueda S, Yamanoi A, Hishikawa Y, Dhar DK, Tachibana M, Nagasue N. Transforming growth factor-beta1 released from the spleen exerts a growth inhibitory effect on liver regeneration in rats. *Lab Invest* 2003; 83: 1595-1603 [PMID: 14615413]
- Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Desmoulière A. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;

■应用要点

肝纤维化模型应用RAPA, 通过RAPA阻断PI3K/AKT/mTOR细胞通路, 具有抑制TGF- β 1在肝脏组织内的表达, 改善肝纤维化病变的进程.

■同行评价

本文研究目的明确,掌握国内外相关研究进展,具有相应的创新性,为肝纤维化等慢性肝损伤的治疗拓宽视野。

- 38: 135-151 [PMID: 16257564]
- 19 Guimarães EL, Best J, Dollé L, Najimi M, Sokal E, van Grunsven LA. Mitochondrial uncouplers inhibit hepatic stellate cell activation. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 68 [PMID: 22686625]
- 20 Xiao X, Gang Y, Gu Y, Zhao L, Chu J, Zhou J, Cai X, Zhang H, Xu L, Nie Y, Wu K, Liu Z, Fan D. Osteopontin contributes to TGF- β 1 mediated hepatic stellate cell activation. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2883-2891 [PMID: 22661273 DOI: 10.1007/s10620-012-2248-7]
- 21 Woodhoo A, Iruarizaga-Lejarreta M, Beraza N, García-Rodríguez JL, Embade N, Fernández-Ramos D, Martínez-López N, Gutiérrez-De Juan V, Arteta B, Caballeria J, Lu SC, Mato JM, Varela-Rey M, Martínez-Chantar ML. Human antigen R contributes to hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Hepatology* 2012; 56: 1870-1882 [PMID: 22576182 DOI: 10.1002/hep.25828]
- 22 Lang Q, Liu Q, Xu N, Qian KL, Qi JH, Sun YC, Xiao L, Shi XF. The antifibrotic effects of TGF- β 1 siRNA on hepatic fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 409: 448-453 [PMID: 21600192 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.05.023]
- 23 Shek FW, Benyon RC. How can transforming growth factor beta be targeted usefully to combat liver fibrosis? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 123-126 [PMID: 15075983]
- 24 Gao N, Flynn DC, Zhang Z, Zhong XS, Walker V, Liu KJ, Shi X, Jiang BH. G1 cell cycle progression and the expression of G1 cyclins are regulated by PI3K/AKT/mTOR/p70S6K1 signaling in human ovarian cancer cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C281-C291 [PMID: 15028555]
- 25 Gao N, Zhang Z, Jiang BH, Shi X. Role of PI3K/AKT/mTOR signaling in the cell cycle progression of human prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 1124-1132 [PMID: 14559232]
- 26 Xu Z, Zhang Y, Jiang J, Yang Y, Shi R, Hao B, Zhang Z, Huang Z, Kim JW, Zhang G. Epidermal growth factor induces HCCR expression via PI3K/Akt/mTOR signaling in PANC-1 pancreatic cancer cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 161 [PMID: 20423485 DOI: 10.1186/1471-2407-10-161]
- 27 翁山耕, 徐常国, 孙颖, 石铮, 林丽娟. 雷帕霉素诱导大鼠肝形状细胞凋亡的研究. *临床肝胆病杂志* 2012; 28: 219-222
- 28 Shafer A, Zhou C, Gehrig PA, Boggess JF, Bae-Jump VL. Rapamycin potentiates the effects of paclitaxel in endometrial cancer cells through inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis. *Int J Cancer* 2010; 126: 1144-1154 [PMID: 19688827 DOI: 10.1002/ijc.24837]

编辑 田滢 电编 闫晋利



OX40和SLP-2在食管鳞癌中的表达及其临床意义

蒋冬, 李建生, 张金平, 李东颖, 刘艳红

蒋冬, 李建生, 张金平, 李东颖, 刘艳红, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室 河南省郑州市 450052

蒋冬, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李建生、张金平及蒋冬设计; 研究过程由蒋冬与刘艳红操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李建生提供; 数据分析由李东颖与刘艳红完成; 本论文写作由蒋冬完成; 李建生审核。

通讯作者: 李建生, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

lijiansheng@medmail.com.cn

电话: 0371-66862052

收稿日期: 2013-08-28 修回日期: 2013-09-29

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Clinical significance of expression of OX40 and SLP-2 in esophageal squamous cell carcinoma

Dong Jiang, Jian-Sheng Li, Jin-Ping Zhang, Dong-Ying Li, Yan-Hong Liu

Dong Jiang, Jian-Sheng Li, Jin-Ping Zhang, Dong-Ying Li, Yan-Hong Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Jian-Sheng Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lijiansheng@medmail.com.cn

Received: 2013-08-28 Revised: 2013-09-29

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of OX40 and SLP-2 in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and to analyze their correlation with clinicopathological status of ESCC patients.

METHODS: The expression of OX40 and SLP-2 was detected by immunohistochemistry in 94 ESCC tissues, 31 adjacent atypical hyperplasia tissues and 3 adjacent normal esophageal tissues. The correlation between OX40 and SLP-2 expression and clinicopathological features of ESCC was analyzed.

RESULTS: OX40 and SLP-2 expression in ESCC (54.3%, 50.0%) was significantly higher than

that in atypical hyperplasia tissue and histologically normal esophageal mucosa (3.2%, 6.5%) ($\chi^2 = 26.374$, 20.988, $P < 0.05$). Furthermore, the expression of OX40 and SLP-2 was significantly associated with TNM stage and lymph node metastasis. OX40 expression was correlated with SLP-2 expression in ESCC.

CONCLUSION: The high expression of OX40 and SLP-2 in ESCC may directly influence tumor invasiveness and metastasis. OX40 expression is correlated with SLP-2 expression in ESCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; OX40; SLP-2; TNM stage; Lymph node metastasis

Jiang D, Li JS, Zhang JP, Li DY, Liu YH. Clinical significance of expression of OX40 and SLP-2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3853-3857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3853>

摘要

目的: 研究OX40和SLP-2在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中的表达情况, 并探讨OX40和SLP-2与食管鳞癌患者临床病理特性的相关性。

方法: (1)应用免疫组织化学法分别检测OX40和SLP-2在94例食管鳞癌组织、31例癌旁不典型增生组织及31例正常组织中的表达。应用SPSS17.0软件对数据进行统计分析。两样本的比较采用四格表资料的 χ^2 检验; OX40和SLP-2的相关性采用Spearman等级相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结果: (1)免疫组织化学结果显示OX40和SLP-2在癌组织(54.3%、50.0%)及癌旁不典型增生组织中(54.8%、25.8%)的表达均明显高于正常组织(3.2%、6.5%)($\chi^2 = 26.374$, 20.988, $P < 0.05$), 且OX40和SLP-2的表达与患者TNM分期及有无淋巴结转移相关; (2)OX40

■背景资料

OX40是TNFR超家族成员之一, 研究表明其在黑色素瘤、淋巴瘤、结直肠癌中表达增高, 在肿瘤免疫中起着抗肿瘤作用, 且与预后呈正相关。SLP-2属于stomatin基因超家族, 在人食管癌、肺癌、喉癌、子宫内膜癌组织中高表达, 并发现其与肿瘤的发生、发展关系密切。目前国内文献甚少有两者在食管癌中的表达及相关性的研究报道。

■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

■研发前沿

通过免疫组织化学法检测OX40和SLP-2在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达,并结合患者临床病理资料进行分析,探讨二者在ESCC中的表达特点及意义。

与SLP-2的表达具有相关性($r = 0.363, P < 0.05$)。

结论: (1)OX40和SLP-2在食管鳞癌组织中高表达,可能参与食管鳞癌的发生发展和转移;(2)OX40和SLP-2的表达具有相关性。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管鳞癌; OX40; SLP-2; TNM分期; 淋巴结转移

核心提示: OX40和SLP-2在食管鳞癌组织中高表达,二者的表达与患者TNM分期及有无淋巴结转移相关,提示其可能参与食管鳞癌的发生发展和转移;且OX40和SLP-2的表达具有相关性,具体机制仍有待进一步研究。

蒋冬, 李建生, 张金平, 李东颖, 刘艳红. OX40和SLP-2在食管鳞癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3853-3857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3853>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3853>

0 引言

食管癌是主要起源于食管鳞状上皮和柱状上皮的恶性肿瘤,其中,食管鳞癌约占90%。我国是食管癌的高发区,也是食管癌病死率最高的国家之一,年死亡率超过100/10万人以上者有19个县市,年死亡率最高者达302.37/10万。本病的发病率与性别、年龄有关。男性多于女性,我国的男女之比约为1.3-2.7:1,大多数患者在40岁后起病,且发病率随年龄的增加而增加^[1]。OX40是TNFR超家族成员之一,为相对分子质量约48-50 kDa的I型跨膜糖蛋白,研究表明其与在黑色素瘤、淋巴瘤、结直肠癌中表达增高,在肿瘤免疫中起着抗肿瘤作用,且与预后呈正相关^[2]。SLP-2属于stomatin基因超家族,在人食管癌、肺癌、喉癌、子宫内膜癌组织中高表达,并发现其与肿瘤的发生、发展关系密切^[3]。本研究通过免疫组织化学法检测OX40和SLP-2在ESCC组织中的表达,并结合患者临床病理资料进行分析,探讨二者在ESCC中的表达特点及意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院2011-01-01/2012-12-30手术切除的ESCC标本94例,取癌组织、癌旁不典型增生组织(距离癌组织边缘<3 cm)及正常组织(距离癌组织边缘>5 cm)。所有标本均经病理学证实为ESCC,术前未接受放、化疗。其中男67例,女27例,年龄46-79岁,中位年龄64

岁。其中组织学分级G1 11例, G2 70例, G3 13例,有淋巴结转移24例,无70例;肿瘤分期按国际抗癌联盟食管癌TNM分期标准(2009年第7版), I期14例, II期62例, III期18例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 鼠抗人单克隆抗体OX40(美国BioLegend公司);鼠抗人SLP-2单克隆抗体(美国Proteintech公司), SP-9000免疫组织化学试剂盒、DAB试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);即用型一步法(非生物素)检测试剂盒(迈新公司)。取上述ESCC组织、癌旁不典型增生组织及正常组织石蜡标本,连续3 μm 切片,采用免疫组织化学SP法检测OX40和SLP-2的表达情况,具体操作参照SP试剂盒说明进行, PBS代替一抗作阴性对照,已知的阳性片子为阳性对照。免疫组织化学由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行评定。

1.2.2 判定标准: OX40阳性反应为肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)细胞膜、细胞浆上出现棕黄色或棕褐色颗粒, SLP-2蛋白阳性反应为细胞膜、细胞质呈黄色。先在低倍视野下随机选取5个视野,然后在高倍镜($\times 400$)下进行计数(个/HPF),每个视野计数100个TIL中的阳性细胞数,取此5个视野的均值,以中位数为截取值将其分为阳性和阴性。以阳性细胞比例的平均值定义为该肿瘤的阳性细胞百分比计算阳性细胞率。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对数据进行处理, OX40和SLP-2二者在肿瘤、癌旁组织、正常组织中的表达差异以及与临床病理类型中的差异采用 χ^2 检验;二者相关性采用Spearman等级资料相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OX40和SLP-2在癌组织、癌旁不典型增生组织、正常组织中的表达 OX40和SLP-2在癌组织及癌旁不典型增生组织中的表达均明显高于正常组织,差异有统计学意义($\chi^2 = 26.374, 20.988, P < 0.05$)(图1, 表1)。

2.2 OX40和SLP-2的表达与ESCC患者临床病理特征之间的关系 OX40和SLP-2的表达与患者TNM分期及有无淋巴结转移相关($P < 0.05$, 表2),而与患者的年龄、性别、浸润深度等因素无关。

2.3 OX40和SLP-2二者的相关性 肿瘤组织中OX40和SLP-2阳性为34例, OX40阳性、SLP-2

■相关报道

2008年Sarff等研究发现OX40在黑色素瘤等恶性肿瘤中呈高表达,在肿瘤免疫中起着抗肿瘤的作用;张立勇等首次发现SLP-2基因在食管鳞状细胞癌中过表达,并与肿瘤的发生、发展关系密切,而两者在食管癌组织中的共同表达及相关性分析尚未见报道。

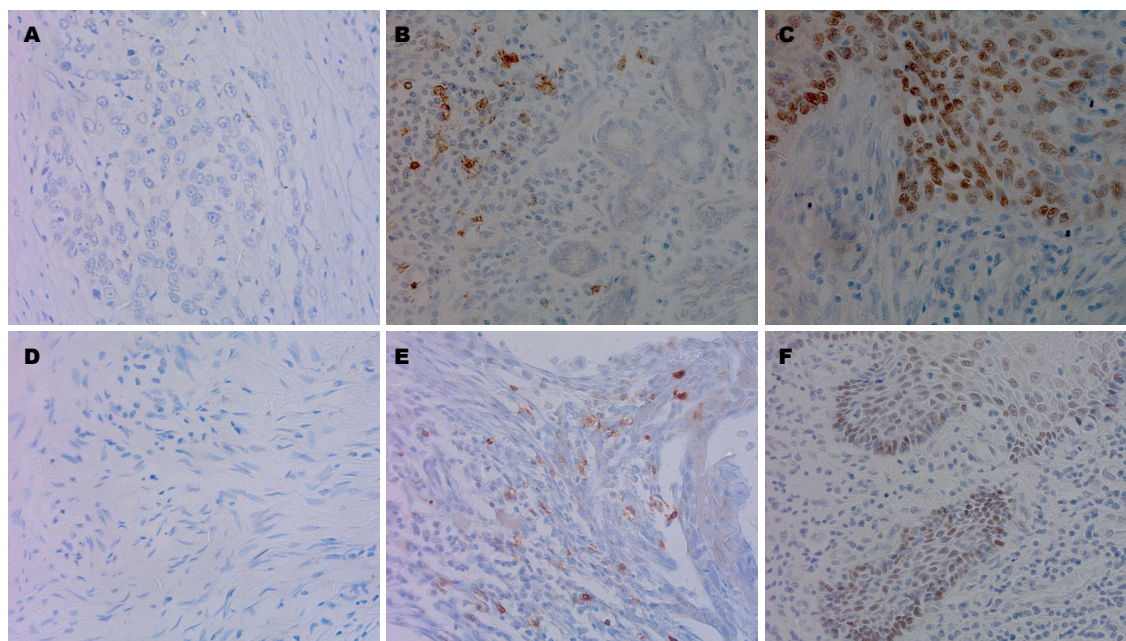


图 1 不同食管组织中OX40和SLP-2蛋白的表达结果(SP×400). A: 正常食管组织中OX40表达阴性; B: 癌旁组织中OX40表达阳性; C: 癌组织中OX40表达阳性; D: 正常食管组织中SLP-2蛋白表达阴性; E: 癌旁组织中SLP-2蛋白表达阳性; F: 癌组织中SLP-2蛋白表达阳性.

■创新盘点

本实验对94例ESCC标本中OX40和SLP-2的表达水平进行检测,结果表明,OX40和SLP-2在食管鳞癌组织中高表达,可能参与食管鳞癌的发生发展和转移,且二者的表达具有相关性,对于更进一步的研究指明了方向.

表 1 OX40和SLP-2在ESCC癌组织、癌旁组织、正常组织中的表达 $n(\%)$

分组	<i>n</i>	OX40阳性	SLP-2阳性
癌组织	94	51(54.3)	47(50.0)
癌旁组织	31	17(54.8)	8(25.8)
正常组织	31	1(3.2)	2(6.5)
χ^2 值		26.374	20.988
<i>P</i> 值		0	0

阴性为17例, OX40阴性、SLP-2阳性为13例, OX40和SLP-2都阴性的为34例. 经过分析OX40与SLP-2在肿瘤组织中的表达具有相关性($r = 0.363, P < 0.05$).

3 讨论

OX40(又称ACT35、CD134、TNFRSF4)属于TNFR超家族成员之一, 于1987年首次发现, 为相对分子量约48-50 kDa的I型跨膜蛋白. 人OX40基因位于1号染色体上, 诱导性表达在活化的CD4⁺和CD8⁺ T细胞, 并且在活化的调节性T细胞、NKT细胞、NK细胞核中性粒细胞也有表达. OX40配体OX40L(CD134L、gp34)属TNF超家族成员之一, 为相对分子量约34 kDa的II型跨膜蛋白, 其诱导性表达于专职的抗原提呈细胞APCs以及T细胞^[4]. OX40/OX40L介导的共刺激信号参与T细胞活化、增殖和迁移, 并在记忆性T细胞的形成和Th1、Th2分化过程中发挥

重要的作用. 国内外文献多报道OX40/OX40L通路在自身免疫性疾病的发生、发展中的作用, 对于其在肿瘤细胞中的研究较少. OX40/OX40L信号可通过包括促进细胞因子转录、上调Bcl2家族抗凋亡基因等多种机制延长OX40⁺ T细胞存活期, 因此其被认为是一个抗凋亡分子^[5]. 有文献报道OX40在乳腺癌、黑色素瘤、结直肠癌等中呈高表达状态^[6,7], 在肿瘤免疫中起到抗肿瘤的作用, 且与预后呈正相关^[2]. 本研究结果与此结论并不一致. 另外还有文献报道OX40/OX40L除发挥共刺激信号作用外, 还可介导细胞间的物理黏附, 并通过活化多种黏附分子, 促进细胞黏附从而有利于ATL细胞在体内微环境的存活^[8]. 在乳腺癌的研究表明OX40与乳腺癌的TNM分期、淋巴结转移成正相关, 提示OX40的高表达可能与乳腺癌的发生、发展、侵袭和转移有关^[9]. 本研究结果显示, OX40在食管癌组织中的表达与TNM分期、淋巴结转移存在明显正相关性($P < 0.05$). OX40的表达在有淋巴结转移的情况下较无淋巴结转移组明显升高, 在TNMⅢ期组织中的表达明显高于I、II期. 原因可能为OX40可介导细胞间的物理黏附, 并可通过OX40/OX40L活化许多黏附分子, 促进细胞黏附, 从而有利于食管癌细胞在体内微环境存活. 提示OX40可能作为黏附因子不仅在ESCC的发生过程中起作用, 还参与ESCC的进展.

■应用要点

对于 OX40 和 SLP-2 在食管组织中表达水平的检测可能作为食管鳞癌的预后指标, 指导食管鳞癌患者的预后生存, 并有可能作为一个新的肿瘤靶向治疗的靶点。

表 2 OX40和SLP-2在ESCC组织中的表达与临床病理的关系

临床病理特征	n	OX40阳性			SLP-2阳性		
		n(%)	χ^2 值	P值	n(%)	χ^2 值	P值
年龄(岁)			2.328	0.127		0.029	0.865
≥60	56	34(60.7)			28(50.0)		
<60	38	17(44.7)			19(50.0)		
性别			0.224	0.636		0.052	0.82
男	67	37(55.2)			34(50.7)		
女	27	14(51.9)			13(48.1)		
浸润深度			0.241	0.886		2.375	0.305
T1	10	6(60.0)			6(60.0)		
T2	33	17(51.5)			13(39.4)		
T3-T4	51	28(54.9)			28(54.9)		
淋巴结转移			10.98	0.001		5.595	0.018
无	70	31(44.3)			34(48.6)		
有	24	20(83.3)			13(54.2)		
TNM分期			9.564	0.008		24.7	0
I	14	9(64.3)			6(42.9)		
II	62	27(43.5)			30(48.4)		
III	18	15(83.3)			11(61.1)		
组织学分级			1.573	0.455		2.864	0.239
G1	11	5(45.5)			3(27.3)		
G2	70	37(52.9)			38(54.3)		
G3	13	9(69.2)			6(46.2)		
肿瘤大小(cm)			0.389	0.533		0.184	0.668
≥4	34	17(50.0)			18(52.9)		
<4	60	34(56.7)			29(48.3)		

SLP-2基因是2000年首次发现并命名的一个新基因, 其表达产物在当时被鉴定为细胞膜相关蛋白^[10]。SLP-2是stomatin基因超家族的一员, 其编码的SLP-2蛋白在人体组织中如脑、肺、胸腺、气管、食管黏膜等中广泛表达, 其中在骨骼肌和心肌中的表达水平较高。多项研究表明, SLP-2在恶性肿瘤中表达明显上调, 在肿瘤的发生、发展过程中可能具有重要作用^[11]。张立勇等^[12]首次发现SLP-2基因在食管鳞状细胞癌中过表达。此后的一些研究表明, SLP-2基因在胃癌、肺癌、喉癌、子宫内膜癌^[13-16]等恶性肿瘤中也存在高表达, 推测其在恶性肿瘤中的高表达是一个较为普遍的现象, SLP-2可能是一个新的癌基因。但目前关于SLP-2基因的研究较少。本研究采用免疫组织化学法检测食管鳞癌、癌旁组织及正常组织中SLP-2蛋白表达水平, 结果显示SLP-2基因表达在食管癌组织及癌旁组织中表达较正常组织明显升高($P<0.05$)。结合免疫组织化学结果和患者临床病理资料进行分析发现, SLP-2蛋白的高表达与食管鳞癌的临床分期和有无淋巴结转移有关(均 $P<0.05$), 即较

晚期病例的食管鳞癌组织SLP-2蛋白表达水平高于较早期病例的食管鳞癌组织, 有淋巴结转移的病例相对应的食管鳞癌组织中SLP-2蛋白的表达水平高于无淋巴结转移的病例。而SLP-2蛋白的表达与其他临床病理变量没有显著相关性, 提示SLP-2可能是一个与食管鳞癌分期和转移相关的指标, 在食管鳞癌的发展和转移中起一定的促进作用。

总之, 本研究发现OX40和SLP-2在食管鳞癌组织中呈高表达, 并与食管鳞癌的TNM分期和淋巴转移有关。恶性肿瘤的分期及是否有淋巴转移和远处转移是决定其预后的重要因素。因此, OX40和SLP-2的表达水平可能作为食管鳞癌的预后指标, 指导食管鳞癌患者的预后生存。本研究发现OX40与SLP-2的表达存在相关性, 但是其具体机制仍有待进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 陈灏珠、林果为. 实用内科学. 第13版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 1959-1962
- 2 Sarff M, Edwards D, Dhungel B, Wegmann KW, Corless C, Weinberg AD, Vetto JT. OX40 (CD134)

- expression in sentinel lymph nodes correlates with prognostic features of primary melanomas. *Am J Surg* 2008; 195: 621-625; discussion 625 [PMID: 18374895 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.12.036]
- 3 Hájek P, Chomyn A, Attardi G. Identification of a novel mitochondrial complex containing mitofusin 2 and stomatin-like protein 2. *J Biol Chem* 2007; 282: 5670-5681 [PMID: 17121834]
- 4 Croft M, So T, Duan W, Soroosh P. The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease. *Immunol Rev* 2009; 229: 173-191 [PMID: 19426222 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00766.x]
- 5 Song J, So T, Croft M. Activation of NF-kappaB1 by OX40 contributes to antigen-driven T cell expansion and survival. *J Immunol* 2008; 180: 7240-7248 [PMID: 18490723]
- 6 Hamidinia M, Ghafourian Boroujerdnia M, Taleizadeh A, Solgi G, Taghdiri M, Khodadadi A. Concomitant Increase of OX40 and FOXP3 Transcripts in Peripheral Blood of Patients with Breast Cancer. *Iran J Immunol* 2013; 10: 22-30 [PMID: 23502335]
- 7 Cepowicz D, Gryko M, Zaręba K, Stasiak-Bermuta A, Kędra B. Assessment of activity of an adhesion molecule CD134 and CD137 in colorectal cancer patients. *Pol Przegl Chir* 2011; 83: 641-645 [PMID: 22343199 DOI: 110.2478/v10035-011]
- 8 Imura A, Hori T, Imada K, Ishikawa T, Tanaka Y, Maeda M, Imamura S, Uchiyama T. The human OX40/gp34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1996; 183: 2185-2195 [PMID: 8642328]
- 9 Xie F, Wang Q, Chen Y, Gu Y, Mao H, Zeng W, Zhang X. Costimulatory molecule OX40/OX40L expression in ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of breast: an immunohistochemistry-based pilot study. *Pathol Res Pract* 2010; 206: 735-739 [PMID: 20634005 DOI: 10.1016/j.prp.2010.05.016]
- 10 Wang Y, Morrow JS. Identification and characterization of human SLP-2, a novel homologue of stomatin (band 7.2b) present in erythrocytes and other tissues. *J Biol Chem* 2000; 275: 8062-8071 [PMID: 10713127]
- 11 Cao W, Zhang B, Ding F, Zhang W, Sun B, Liu Z. Expression of SLP-2 was associated with invasion of esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e63890 [PMID: 23667687 DOI: 11010.1371/journal.pone.0063890]
- 12 张立勇, 王涛, 丁芳, 刘仲敏, 刘芝华, 李衍达. SLP-2基因在食管鳞癌中的差异表达及其生物信息学分析. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1517-1521
- 13 张剑, 李建生, 吴敏, 赵晔. SLP-2在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1778-1781
- 14 Chang D, Ma K, Gong M, Cui Y, Liu ZH, Zhou XG, Zhou CN, Wang TY. SLP-2 overexpression is associated with tumour distant metastasis and poor prognosis in pulmonary squamous cell carcinoma. *Biomarkers* 2010; 15: 104-110 [PMID: 19839737 DOI: 10.3109/13547500903311910]
- 15 Cao WF, Zhang LY, Liu MB, Tang PZ, Liu ZH, Sun BC. Prognostic significance of stomatin-like protein 2 overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma: clinical, histologic, and immunohistochemistry analyses with tissue microarray. *Hum Pathol* 2007; 38: 747-752 [PMID: 17306333]
- 16 Cui Z, Zhang L, Hua Z, Cao W, Feng W, Liu Z. Stomatin-like protein 2 is overexpressed and related to cell growth in human endometrial adenocarcinoma. *Oncol Rep* 2007; 17: 829-833 [PMID: 17342323]

同行评价

本文具有一定科学性和创新性, 对食管癌临床的诊断和治疗有一定的帮助。

编辑 田滢 电编 闫晋利



TG2在胃癌组织中表达的临床意义

李臻, 张志伟, 赵强, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 杨林

■背景资料

胃癌的发生涉及众多基因的异常表达, 组织中不同基因的表达与组织学类型、分化程度、转移和预后等密切相关。

李臻, 赵强, 杨林, 湖南省胃癌研究中心 南华大学附属第一医院 湖南省衡阳市 421001

李臻, 衡阳市中心医院急诊科 湖南省衡阳市 421001

张志伟, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 肿瘤细胞与分子病理学湖南省高校重点实验室 湖南省胃癌研究中心 南华大学肿瘤研究所 湖南省衡阳市 421001

伍石华, 邵阳医学高等专科学校附属医院病理科 湖南省邵阳市 422000

李臻, 主治医师, 在读研究生, 主要从事消化系统肿瘤的临床研究。

湖南省自然科学基金联合基金资助项目, No.12JJ9033

湖南省自然科学基金资助项目, Nos. 12JJ3102, 13JJ3079

湖南省科技厅基金资助项目, Nos. 2013SK3118, 2011SK3089

湖南省高校创新平台开放基金资助项目, Nos. 10K052, 12K094, 13K082, 13K083

湖南省研究生科研创新基金资助项目, No. CX2010B380

湖南省教育厅科研基金资助项目, Nos. 11C1112, 12C0340

作者贡献分布: 此课题由张志伟设计; 实验操作由李臻、刘重元、杨科及邓彦君完成; 实验标本来源由赵强与伍石华提供; 数据分析与本文撰写由李臻、张志伟及杨林完成。

通讯作者: 张志伟, 副教授, 硕士生导师, 421001, 湖南省衡阳市常胜西路28号, 南华大学医学院肿瘤研究所。

nhdxzzw@qq.com

电话: 0734-8281510

收稿日期: 2013-08-26 修回日期: 2013-09-25

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-08

Clinical significance of expression of tissue transglutaminase 2 in gastric carcinoma

Zhen Li, Zhi-Wei Zhang, Qiang Zhao, Zhong-Yuan Liu, Ke Yang, Yan-Jun Deng, Shi-Hua Wu, Lin Yang

Zhen Li, Qiang Zhao, Lin Yang, Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province; the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Zhen Li, Department of Emergency, Central Hospital of Hengyang, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Zhi-Wei Zhang, Zhong-Yuan Liu, Ke Yang, Yan-Jun Deng, Shi-Hua Wu, University Key Laboratory of Cancer Cellular and Molecular Pathology in Hunan Province; Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province; Cancer Research Institute, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Shi-Hua Wu, Department of Pathology, Shaoyang Medical School, Shaoyang 422000, Hunan Province, China

Supported by: the Hunan Provincial Natural Science Committee and Hengyang City Government Unification Foundation, No. 12JJ9033; the Hunan Provincial Natural Science Foundation, Nos. 12JJ3102 and 13JJ3079; the Hunan Provincial Science and Technology Department Foundation, Nos. 2013SK3118 and 2011SK3089; the Hunan Provincial Groundbreaking Platform Open Fund of University, Nos. 10K052, 12K094, 13K082 and 13K083; Hunan Provincial Postgraduate Groundbreaking Scientific Research Founda-

tion, No. CX2010B380 and the Hunan Provincial Education Department Foundation, Nos. 11C1112 and 12C0340

Correspondence to: Zhi-Wei Zhang, Associate Professor, Cancer Research Institute, Medical College of University of Southern China, 28 Changsheng West Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. nhdxzzw@qq.com

Received: 2013-08-26 Revised: 2013-09-25

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of expression of tissue transglutaminase 2 (TG2) in gastric carcinoma, so as to provide a new clue for finding new specific markers of gastric cancer.

METHODS: The expression of TG2 in gastric cancer tissues was detected by RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry. The clinical significance of TG2 expression in gastric cancer was analyzed.

RESULTS: The result of RT-PCR and Western blot analyses showed that the mRNA and protein expression levels of TG2 were significantly lower in normal gastric mucosa than in gastric cancer tissues (0.274 ± 0.051 vs 0.671 ± 0.105 , 0.317 ± 0.032 vs 0.918 ± 0.117 , both $P < 0.05$). The immunohistochemical results demonstrated that the positive expression rate of TG2 protein in normal gastric mucosa was significantly lower than that in gastric cancer tissues [33.33% (8/24) vs 71.74% (33/46), $P < 0.05$].

CONCLUSION: Overexpression of TG2 protein may be closely related to the occurrence of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Tissue transglutaminase2; Proteic expression; Clinical pathology

Li Z, Zhang ZW, Zhao Q, Liu ZY, Yang K, Deng YJ, Wu SH, Yang L. Clinical significance of expression of tissue transglutaminase 2 in gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(34): 3858-3862 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3858>

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

摘要

目的: 了解组织型转谷氨酰胺酶2(tissue transglutaminase 2, TG2)在胃中的表达情况及其临床意义, 为寻找早期诊断胃癌相关的分子标志物提供实验依据。

方法: 采用RT-PCR和Western blot检测TG2在胃癌组织中的表达; 应用免疫组织化学染色检测TG2在胃癌组织中的表达, 并分析其在胃癌组织中表达的临床病理学意义。

结果: (1)RT-PCR和Western blot结果均显示, TG2在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达强度分别为 0.274 ± 0.051 vs 0.671 ± 0.105 和 0.317 ± 0.032 vs 0.918 ± 0.117 , 与正常胃黏膜组织比较, TG2在胃癌组织中的表达明显增加($P < 0.05$); (2)免疫组织化学染色结果显示, TG2蛋白在正常胃黏膜和胃癌组织中的阳性表达率分别为33.33%(8/24)和71.74%(33/46), 胃癌组织中的阳性表达率明显高于正常胃黏膜组织($P < 0.05$)。

结论: TG2蛋白高表达与胃癌的发生密切相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; TG2; 蛋白表达; 临床病理

核心提示: 早期诊断对提高胃癌患者5年生存率具有十分重要的影响, 获得早期诊断的特异性分子标记则是早期确诊的关键因素。组织型转谷氨酰胺酶2(tissue transglutaminase 2)作为正常胃黏膜与胃癌组织中差异表达蛋白质, 有望成为早期诊断胃癌的预警分子指标。

李臻, 张志伟, 赵强, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 杨林. TG2在胃癌组织中表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3858–3862 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3858>

0 引言

近年来, 尽管全球的胃癌发病率呈逐渐下降趋势, 但中国却高出世界平均水平两倍多, 且已逐年呈现年轻化趋势。临床上绝大多数患者确诊时已属胃癌进展期, 甚至发生远处转移, 临床治疗及预后极差^[1,2]。因此, 胃癌的早期诊断及治疗变得尤为重要。目前, 寻找高效、敏感的胃癌诊断标志物, 对提高胃癌早期诊断, 改善整体疗效, 延长患者生命具有十分重要的意义。我们选取前期通过蛋白质组学方法筛选的胃癌相关蛋白质组织型转谷氨酰胺酶2(tissue transglutaminase

2, TG2)^[3], 检测其在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达情况, 以期胃癌早期诊断标志物的发现提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 17例新鲜胃癌及匹配的远端胃黏膜组织均选自2011-10/2012-05南华大学附属第一医院肿瘤外科手术切除标本, 所有胃癌患者术前均未经化、放疗, 所有标本均已病理确诊。分别切取癌组织及距癌灶边缘约5.0 cm以上的远端胃黏膜组织, 于液氮罐内保存。另收集南华大学附一医院存档石蜡标本共70例, 正常胃黏膜24例, 胃癌46例, 其中男26例, 女20例, 年龄42-75岁, 高分化腺癌19例, 中分化腺癌10例, 低未分化腺癌17例。采用Primer5.0软件设计引物(表1), 由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR检测TG2 mRNA表达: 将20 mg组织在液氮中碾磨后, 加入1 mL TRIzol充分混匀, 按TRIzol试剂操作程序抽提组织总RNA, 分别用紫外分光光度计和凝胶电泳检测RNA的浓度、纯度和质量, -80 °C保存备用。RT-PCR按照AMV逆转录试剂盒说明书, 按照操作步骤进行逆转录, 然后取RT产物2 μL, 加入引物和内对照引物分别各1 μL(10 μmol/L)设30 μL PCR反应体系, 在PCR仪中扩增, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

1.2.2 Western blot检测TG2蛋白的表达: 将收集的组织加入组织裂解液后, 分别在匀浆器中研磨, 制备蛋白, 测定浓度后, 以各泳道50 μg的总蛋白进行10%SDS不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜、封闭, 一抗(1:1000)及抗β-actin单体(1:2000)4 °C孵育过夜, 洗膜后, HRP标记的羊抗兔二抗(1:1000)孵育、洗膜、发光、曝光、显影、定影以及分析结果。

1.2.3 免疫组织化学染色: 将制备好的石蜡切片二甲苯脱蜡2次后水化; PBS洗片3次, 每次3 min; 抗原修复; 加3%过氧化物酶阻断液, 37 °C 15 min; PBS洗片3次, 每次3 min; 加足量非免疫性动物血清, 37 °C 10 min; 分别滴加 I 抗(兔抗人TG2单克隆抗体为epitomic公司产品), 4 °C过夜; 滴加生物素标记的 II 抗, 37 °C 15 min; 滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 37 °C 15 min; DAB显色、苏木素复染、返蓝、脱水、透明, 封片, 显微镜观察、照相。阳性表达的判断标准: 浅黄色为弱阳性, 黄色或棕黄色为中等阳性, 棕

■研究前沿

了解胃癌发生中组织型转谷氨酰胺酶2(tissue transglutaminase 2, TG2)蛋白的表达情况, 可为胃癌的早期诊断、组织学分型及预后提供实验依据。

■相关报道

早期诊断是胃癌研究的热点之一。至今, 许多研究从不同角度进行了系统深入的探讨与分析, 尤其是蛋白质组学技术的迅猛发展, 为胃癌早期诊断分子标志物的筛选提供了大量的素材, 深入了解相关胃癌差异表达蛋白质在胃癌组织中的表达的意义, 对临床早期诊断、治疗机预后评估等均有十分重要的意义。

■ 创新盘点

本文通过选取前期课题组通过激光捕获显微切割技术(laser capture microdissection, LCM)结合定量蛋白质组学技术筛选的胃癌组织差异表达蛋白质TG2,在正常胃黏膜和胃癌组织中从基因、蛋白水平及组织中的表达情况进行观察,全面证实与分析TG2蛋白表达的意义,为胃癌早期诊断分子标志物的筛选提供了非常有价值的实验资料。

表 1 引物序列及长度

基因	引物序列	产物大小(bp)
<i>TG2</i>	上游: TATGGCCAGTGCTGGGTCTTCGCC 下游: GGCTCCAGGTTAGGTTGAGCAGG	786
β -actin	上游: GGACCTGACTGACTACCTC 下游: CATACTCCTGCTTGCTGAT	553

TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2。

表 2 *TG2*基因在正常胃黏膜及胃癌组织表达情况($n=17$)

分组	<i>TG2</i> 基因表达	<i>P</i> 值
正常胃黏膜	0.274 ± 0.051	<0.05
胃癌组织	0.671 ± 0.105	

TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2。

表 3 *TG2*蛋白在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达情况($n=17$)

分组	<i>TG2</i> 蛋白	<i>P</i> 值
正常胃黏膜	0.317 ± 0.032	<0.01
胃癌组织	0.918 ± 0.117	

TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2。

色或深棕色为强阳性,无棕黄色或与背景着色一致为阴性。

统计学处理 应用SPSS17.0统计学软件进行结果分析,Western blot及RT-PCR数据均采用配对 t 检验,免疫组织化学染色采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR检测*TG2*基因的表达结果 *TG2*基因在正常胃黏膜组织的表达强度[相对强度(relative value, Rv)]为 0.274 ± 0.051 ,胃癌组织*TG2*基因表达强度Rv为 0.671 ± 0.105 (表2)。与正常胃黏膜组对比,胃癌组*TG2*基因的表达均明显增强($P<0.05$)(图1,表2)。

2.2 Western blot检测*TG2*蛋白的表达结果 *TG2*蛋白在正常胃黏膜和胃癌组织的表达强度Rv分别为 0.317 ± 0.032 和 0.918 ± 0.117 。与正常胃黏膜组织组比较,*TG2*蛋白在胃癌组织中高表达,较正常胃黏膜组表达明显增强($P<0.01$,图2,表3)。

2.3 免疫组织化学染色检测*TG2*蛋白的表达 *TG2*蛋白主要表达于胞浆内,在正常胃黏膜和胃癌组织中的阳性表达率分别为33.33%(8/24)和

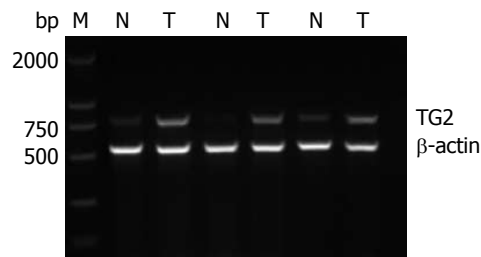


图 1 RT-PCR 检测*TG2*基因的表达。M: DL2000 marker; N: 正常胃黏膜; T: 胃癌组织。TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2。

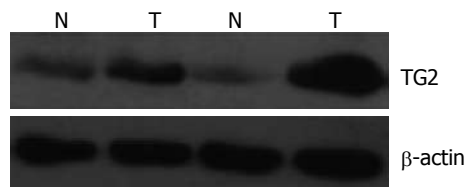


图 2 Western blot检测*TG2*蛋白在胃癌中的表达。N: 正常胃黏膜; T: 胃癌组织。TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2。

71.74%(33/46),表明在胃癌组织中*TG2*蛋白的表达明显上调,显著高于正常胃黏膜组织($P<0.05$,图3,表4)。

3 讨论

近年来,虽然胃癌的早期筛查、诊断及治疗水平均有了一定程度的提高,但临床效果及患者预后仍不容乐观。胃镜结合活检是目前最常用的早期确诊手段,然而检查很难进行大规模普及。现已临床应用的CEA、CA19-9、CA50等^[4-6]胃癌分子标志物因缺乏特异性对胃癌的早期诊断尚无定论。因此,寻找胃癌早期诊断的相关分子标志物,对提高患者的5年生存率和改善预后仍具有非常重要的意义。

蛋白质组学技术可以从整体水平分析组织与细胞中的全部蛋白质表达改变,如包括蛋白的表达、组成、翻译及修饰,了解蛋白间的相互作用,能够更全面客观地反应癌变的动态过程,是目前筛选肿瘤诊断标志物的高通量的方法。我选取本课题组前期通蛋白质组学技术筛

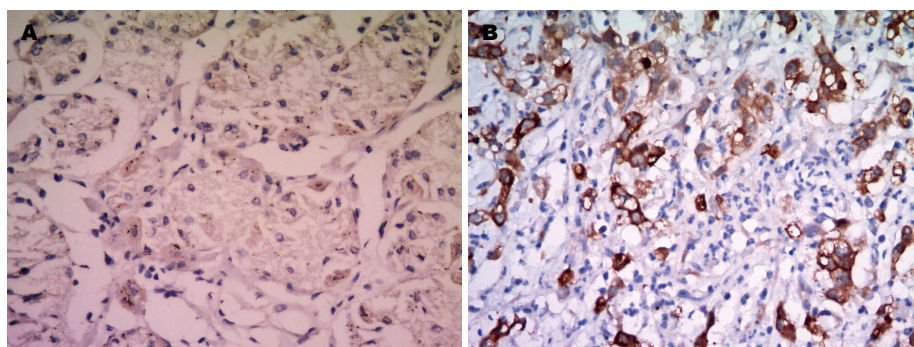


图 3 TG2蛋白在正常胃黏膜和胃癌组织中的表达(SP × 400). A: 正常胃黏膜组织; B: 胃癌组织.

■应用要点

分析TG2蛋白在胃癌组织中的表达及意义, 为正常胃黏膜癌变的临床病理诊断及鉴别提供了分子参考, 对该蛋白的深入研究, 有望成为早期发现、预防与诊断胃癌的预警分子指标.

表 4 TG2蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达情况(n)

分组	n	-	+	++-+++	P值
正常胃黏膜	24	16	5	3	<0.05
胃癌组织	46	13	7	26	

TG2: 组织型转谷氨酰胺酶2.

选的胃癌相关蛋白质-TG2蛋白, 分析其在胃癌中的表达情况.

TG2是TG家族中的重要成员, 为一类结构功能复杂的蛋白质, 由4个结构域组成, 行使功能的主要为 α/β 催化核心区^[7]. TG2蛋白在人体分布较为广泛(如血管内皮细胞、平滑肌细胞以及成纤维细胞等), 在不同的细胞环境中发挥截然不同的生理功能, 与组织纤维化、神经退行性疾病、动脉粥样硬化和癌症等疾病的发生发展密切相关. 近年来, 大量研究表明TG2在多数肿瘤细胞中上调表达, 包括乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、结肠癌等^[8-13]. Jiang等^[14]运用蛋白质组学对转移相关蛋白进行分析, 发现在转移性肺癌细胞中, 有11个选择性高表达蛋白, 而TG2就是其中之一. 有学者发现通过表皮生长因子诱导TG2的高表达, 能够阻碍化疗药物引发的肿瘤细胞凋亡现象^[15]. 有研究报道^[16], TG2可能通过激活黏附斑激酶, 最终诱导如磷脂酰激醇3-激酶/蛋白激酶B等抗凋亡信号通路, 使细胞生长增殖失控. 另外, TG2的上调表达还可能增强肿瘤基质中转化生长因子- β 的大量分泌, 进一步诱导上皮间叶转化, 增强胃癌的侵袭转移能力^[17].

前期蛋白质组学研究显示, TG2蛋白在胃癌组织中呈高表达, 本实验通过RT-PCR、Western blot和免疫组织化学染色对胃癌及正常胃黏膜组织中TG2的表达进行了验证, 结果与蛋白质组学检测基本一致, 即胃癌组织中TG2蛋白表

达明显高于正常胃黏膜. TG2在胃癌组织中表达上调, 可能与瘤细胞的过度增殖, 抗凋亡增强等有关.

总之, 本实验通过对蛋白质组学初筛的胃癌差异表达蛋白TG2从基因、蛋白及不同组织中的表达情况进行了分析, 结果仅提示TG2蛋白与胃癌的发生密切相关, 有望成为胃癌早期诊断, 判断疗效及预后的一个有价值的指标, 但是其具体的分子机制还有待于进一步深入研究.

4 参考文献

- 1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169
- 2 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249 [PMID: 19474385 DOI: 10.3322/caac.20006]
- 3 陈苏琼. LCM结合定量蛋白质组学技术筛选胃癌组织差异表达蛋白. 南华大学, 2011
- 4 Hoskovec D, Varga J, Konečná E, Antos F. Levels of CEA and Ca 19 - 9 in the sera and peritoneal cavity in patients with gastric and pancreatic cancers. *Acta Cir Bras* 2012; 27: 410-416 [PMID: 22666759 DOI: 10.1590/S0102-86502012000600009]
- 5 Kim DH, Oh SJ, Oh CA, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Bae JM, Kim S. The relationships between perioperative CEA, CA 19-9, and CA 72-4 and recurrence in gastric cancer patients after curative radical gastrectomy. *J Surg Oncol* 2011; 104: 585-591 [PMID: 21695697 DOI: 10.1002/jso.21919]
- 6 Li GC, Zhang Z, Ma XJ, Gu WL, Wang YN, Li J. Are biomarkers correlated with recurrence patterns in patients with resectable gastric adenocarcinoma. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 399-405 [PMID: 21559839 DOI: 10.1007/s11033-011-0751-0]
- 7 Wang Y, Ande SR, Mishra S. Phosphorylation of transglutaminase 2 (TG2) at serine-216 has a role in TG2 mediated activation of nuclear factor-kappa B and in the downregulation of PTEN. *BMC Cancer* 2012; 12: 277 [PMID: 22759359 DOI: 10.1186/1471-2407-12-277]
- 8 Wang Y, Ande SR, Mishra S. Overexpression of phospho mutant forms of transglutaminase 2 downregulates epidermal growth factor receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417: 251-255 [PMID: 22142843 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.094]

■同行评价

本研究TG2在胃中的表达情况及其临床意义,为寻找早期诊断胃癌相关的分子标志物提供实验依据,结果显示TG2蛋白高表达与胃癌的发生密切相关。研究内容较新颖,设计合理,具有较好的临床指导意义。

- 9 Mangala LS, Fok JY, Zorrilla-Calancha IR, Verma A, Mehta K. Tissue transglutaminase expression promotes cell attachment, invasion and survival in breast cancer cells. *Oncogene* 2007; 26: 2459-2470 [PMID: 17043648 DOI: 10.1038/sj.onc.1210035]
- 10 Khanna M, Chelladurai B, Gavini A, Li L, Shao M, Courtney D, Turchi JJ, Matei D, Meroueh S. Targeting ovarian tumor cell adhesion mediated by tissue transglutaminase. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 626-636 [PMID: 21330459 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0912]
- 11 Verma A, Guha S, Diagaradjane P, Kunnumakkara AB, Sanguino AM, Lopez-Berestein G, Sood AK, Aggarwal BB, Krishnan S, Gelovani JG, Mehta K. Therapeutic significance of elevated tissue transglutaminase expression in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2476-2483 [PMID: 18413840 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4529]
- 12 Kotsakis P, Wang Z, Collighan RJ, Griffin M. The role of tissue transglutaminase (TG2) in regulating the tumour progression of the mouse colon carcinoma CT26. *Amino Acids* 2011; 41: 909-921 [PMID: 21046178 DOI: 10.1007/s00726-010-0790-1]
- 13 Assi J, Srivastava G, Matta A, Chang MC, Walfish PG, Ralhan R. Transglutaminase 2 overexpression in tumor stroma identifies invasive ductal carcinomas of breast at high risk of recurrence. *PLoS One* 2013; 8: e74437 [PMID: 24058567 DOI: 10.1371/journal.pone.0074437]
- 14 Jiang D, Ying W, Lu Y, Wan J, Zhai Y, Liu W, Zhu Y, Qiu Z, Qian X, He F. Identification of metastasis-associated proteins by proteomic analysis and functional exploration of interleukin-18 in metastasis. *Proteomics* 2003; 3: 724-737 [PMID: 12748951 DOI: 10.1002/pmic.200300411]
- 15 Antonyak MA, Miller AM, Jansen JM, Boehm JE, Balkman CE, Wakshlag JJ, Page RL, Cerione RA. Augmentation of tissue transglutaminase expression and activation by epidermal growth factor inhibit doxorubicin-induced apoptosis in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 41461-41467 [PMID: 15272014 DOI: 10.1074/jbc.M404976200]
- 16 Nadalutti C, Viiri KM, Kaukinen K, Mäki M, Lindfors K. Extracellular transglutaminase 2 has a role in cell adhesion, whereas intracellular transglutaminase 2 is involved in regulation of endothelial cell proliferation and apoptosis. *Cell Prolif* 2011; 44: 49-58 [PMID: 21199009 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2010.00716.x]
- 17 Zavadil J, Böttinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene* 2005; 24: 5764-5774 [PMID: 16123809 DOI: 10.1038/sj.onc.1208927]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



RKIP在胃癌组织中的低表达及其侵袭力的影响

卢昭辉, 张谢夫, 刘洪翔, 赵爽

卢昭辉, 张谢夫, 刘洪翔, 郑州大学第一附属医院胃肠外科
河南省郑州市 450052

赵爽, 郑州市第九人民医院检验科 河南省郑州市 450053

卢昭辉, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由张谢夫与卢昭辉共同设计; 研究过程由卢昭辉、刘洪翔及赵爽共同完成; 数据分析与论文写作由卢昭辉完成。

通讯作者: 张谢夫, 教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院胃肠外科。zhangxiefu@medmail.com.cn
电话: 0371-67967131

收稿日期: 2013-08-28 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Low expression of RKIP in gastric cancer and its role in gastric cancer cell migration

Zhao-Hui Lu, Xie-Fu Zhang, Hong-Xiang Liu, Shuang Zhao

Zhao-Hui Lu, Xie-Fu Zhang, Hong-Xiang Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Shuang Zhao, Department of Clinical Laboratory, the Ninth People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450053, Henan Province, China

Correspondence to: Xie-Fu Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. zhangxiefu@medmail.com.cn

Received: 2013-08-28 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To detect the expression of Raf kinase inhibitory protein (RKIP) in gastric cancer (GC), to analyze the relationship between RKIP expression and clinicopathological characteristics of GC, and to explore the role of RKIP in invasion of GC cells.

METHODS: The expression levels of RKIP mRNA in 74 gastric cancer tissues and the corresponding tumor-adjacent gastric tissues were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The relationship between RKIP mRNA expression and clinicopathological characteristics of GC was analyzed. Western blot was used to detect the expression level of RKIP protein. In addition, SGC-7901 cells were stably transfected with plasmids that

expressed either sense or antisense RKIP cDNA, with the cells transfected with the empty plasmid as a negative control. The effect of transfection was detected by Western blot. Cell adhesion and invasion assays were used to analyze the effect of RKIP expression on cell invasion *in vitro*.

RESULTS: The expression level of RKIP mRNA in GC tissues was significantly lower than that in adjacent gastric tissues (0.12 ± 0.02 vs 0.48 ± 0.04 , $t = 6.562$, $P < 0.01$). The expression of RKIP mRNA was significantly associated with histologic differentiation, TNM stage, and lymph node metastasis (all $P < 0.05$). RKIP protein expression in cancer tissues was significantly lower than that in adjacent gastric tissues (0.08 ± 0.02 vs 0.41 ± 0.04 , $t = 7.068$, $P < 0.01$). Up-regulated RKIP in SGC-7901 cells could decrease cell invasion, whereas down-regulated RKIP increased cell invasion.

CONCLUSION: Low expression of RKIP in gastric carcinoma is closely related to tumor malignancy and invasiveness, suggesting that RKIP may be a potential therapeutic target for the prevention of metastasis in GC patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Raf kinase inhibitor protein; Invasion

Lu ZH, Zhang XF, Liu HX, Zhao S. Low expression of RKIP in gastric cancer and its role in gastric cancer cell migration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3863-3869 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3863.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3863>

摘要

目的: 检测Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitory protein, RKIP)在胃癌(gastric cancer, GC)中的表达, 分析其与GC生物学行为的关系, 并探讨RKIP对GC侵袭能力的影响。

方法: 应用RT-PCR方法检测74例GC组织及其相应癌旁正常组织中RKIP mRNA的表达, 并

■背景资料

胃癌(gastric cancer, GC)是目前世界上发病率第4位的肿瘤, 居消化系统恶性肿瘤发病率及病死率的第2位, 在中国胃癌是最常见的癌症死亡原因之一, 绝大多数胃癌患者就诊时已处于中晚期, 有的甚至已有远处转移, 缺乏胃癌早期诊断的敏感、特异性指标, 是导致胃癌死亡率、预后差的主要原因之一。因此探讨胃癌发生发展的分子机制, 为临床胃癌的诊治提供分子依据就尤为重要。

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

目前针对Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitory protein, RKIP)与胃癌的浸润和转移能力的研究在国内鲜有报道。

分析胃癌组织中RKIP mRNA的表达与各临床病理学特点之间的关系; Western blot检测GC组织及其癌旁正常组织中RKIP蛋白的表达变化。采用脂质体转染方法将正义、反义RKIP表达质粒及其相应空白载体分别转染SGC-7901细胞, 建立相应的稳定转染细胞系, 并用Western blot检测转染效果。应用Transwell细胞迁移实验研究分析RKIP表达水平改变对GC细胞体外侵袭能力的影响。

结果: RT-PCR结果显示, RKIP mRNA在GC组织中的表达量相对值明显低于在癌旁组织中的表达相对值(0.12 ± 0.02 vs 0.48 ± 0.04 , $t = 6.562$, $P < 0.01$)。在GC组织中, RKIP mRNA的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期、淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$)。RKIP蛋白在GC组织中表达明显低于癌旁正常组织(0.08 ± 0.02 vs 0.41 ± 0.04 , $t = 7.068$, $P < 0.01$)。Transwell细胞迁移实验显示, 上调RKIP表达能抑制SGC-7901细胞的侵袭能力, 而下调RKIP表达能增强SGC-7901细胞的侵袭能力。

结论: RKIP的低表达与胃癌的恶性程度及侵袭性关系密切, 揭示RKIP可能是一个潜在预防胃癌转移的治疗靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; Raf激酶抑制蛋白; 侵袭转移

核心提示: Raf-1激酶抑制蛋白(Raf-1 kinase inhibitor protein, RKIP)在胃癌组织中表达降低或缺失, 且与胃癌细胞的恶性程度和侵袭能力密切相关, 其表达下调/缺失可能促进胃癌转移, RKIP有可能成为肿瘤转移干预治疗的新靶点。

卢昭辉, 张谢夫, 刘洪翔, 赵爽. RKIP在胃癌组织中的低表达及其侵袭力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3863-3869
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3863.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3863>

0 引言

脂酰乙醇胺结合蛋白(phosphatidylethanolamine binding protein, PEBP)是Bernier等^[1,2]从牛脑中纯化出一种可以与磷脂酰乙醇胺结合的蛋白。1999年, Yeung等^[3]发现人PEBP能与Raf-1结合, 从而抑制Raf-1/活化蛋白激酶的激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)/胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号通路信号通路, 因此, 其被重新命名为Raf-1激酶抑制蛋白(Raf-1 kinase inhibitor protein,

RKIP)。2003年Fu等^[4]研究发现PKIP可以抑制肿瘤细胞转移的作用后, PKIP成为肿瘤领域的一个新的热点。RKIP能抑制前列腺癌, 乳腺癌和黑色素瘤细胞的转移, 而且RKIP下调或缺失与前列腺癌, 乳腺癌和黑色素瘤等多种人类恶性肿瘤的转移和不良预后有关^[4-6]。然而, RKIP在胃癌(gastric cancer, GC)转移中的作用尚未见报道。为探讨RKIP在GC转移中的作用和机制, 本研究采用RT-PCR及Western blot检测RKIP在GC组织与相应癌旁组织中的表达差异, 并采用脂质体转染方法将正义、反义RKIP表达质粒及其相应空白载体分别转染SGC-7901细胞, 建立相应的稳定转染细胞系, 分析RKIP表达水平改变对GC细胞体外侵袭能力影响。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-12/2013-02郑州大学第一附属医院胃肠外科手术切除的胃癌标本74例, 每例标本均采集癌组织和距肿瘤5 cm的癌旁组织。手术切除标本离体后用4℃的生理盐水冲洗掉血污, 迅速置入无菌冻存管于-80℃冰箱保存备用。所有检测标本均经病理学诊断证实, 患者知情同意且术前均未行放化疗。74例患者中男39例、女35例; 年龄23-85岁, 中位年龄61岁。肿瘤癌灶 < 5 cm 41例, ≥ 5 cm 33例。胃癌组织按分化程度分为: 低分化组30例、中分化26例和高分化组18例。按美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)胃癌TNM分期(2010年第7版)标准^[7,8]: I期9例, II期14例, III期31例, IV期20例。淋巴结转移阳性47例, 阴性27例。有远处转移19例, 无远处转移55例。人胃癌细胞SGC-7901由郑州大学基础医学院提供, 为中分化胃腺癌细胞^[9], 来源于56岁女性转移性腺癌的淋巴结中的癌组织; 细胞在37℃、5%CO₂饱和湿度条件下, 用含10%FBS的DMEM培养基培养。pcDNA3.1(+)-ssRKIP为带有正义RKIP cDNA的表达载体, pcDNA3.1(-)-asRKIP为带有反义RKIP cDNA的表达载体, pcDNA3.1(+), pcDNA3.1(-)为空白质粒, 上述质粒均购自美国Invitrogen公司。FBS、DMEM购自Gibico公司, TRIzol及RT-PCR试剂盒购自Gibico公司。RKIP上游引物: 5'-GAATAGACCCACCAGCAT-3', 下游引物: 5'-CGTAAACCAGCCAGACAT-3', 预计扩增片段长度为236 bp; GAPDH上游引物: 5'-ATCTGGCACCACACCTTCTACAATGAGCTGCG-3',

下游引物: 5'-CGTCATACTCCTGCTTGCT-GATCCACATCTGC-3', 预计扩增长度342 bp, 所有引物序列均由上海生工生物工程有限责任公司提供. 一抗为兔抗人RKIP多克隆抗体, 二抗为HRP标记的山羊抗兔IgG, 购自美国Santa Cruz公司; 内参为鼠抗人 β -actin单克隆抗体, 二抗为HRP标记的山羊抗鼠IgG, 均购自美国Sigma公司; ECL发光液及BCA蛋白定量试剂盒购自美国Pierce公司; Lipofectamine2000购自美国Invitrogen公司; Transwell小室购自美国Corning公司.

1.2 方法

1.2.1 采用逆转录聚合酶链反应检测RKIP mRNA的表达变化: 按照试剂盒的操作说明分别提取癌组织和癌旁组织总RNA, 在20 μ L的反应体积中加入2.0 μ L总RNA, 37 $^{\circ}$ C孵育1.5 h, 95 $^{\circ}$ C灭活5 min, 再立即冰浴, -20 $^{\circ}$ C保存备用. 然后设计引物, 进行PCR扩增, 在25 μ L PCR反应体系中加入cDNA 2 μ L, 扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C预变性3 min, 94 $^{\circ}$ C变性45 s, 57 $^{\circ}$ C退火45 s, 72 $^{\circ}$ C延伸45 s; 循环30次. 最后72 $^{\circ}$ C延伸8 min, 经1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定PCR产物. 通过凝胶扫描仪进行DNA电泳条带密度值分析, 以GAPDH作为阳性对照, 将RKIP与GAPDH比值作为RKIP表达水平的参数, 对RKIP产物相对定量.

1.2.2 Western blot检测RKIP蛋白的表达: 将标本从-80 $^{\circ}$ C冰箱取出研磨, 在冰浴条件下加入裂解液, 置匀浆器中反复研磨, 使组织充分匀浆化, 冰浴30 min后, 4 $^{\circ}$ C、12000 r/min离心15 min, 取上清, 74例胃癌及对应的癌旁组织成功提取总蛋白. 用BCA法测上清蛋白浓度, 制备12%SDS-PAGE, 每泳道加总蛋白量30 μ g, 进行电泳, 经半干转印至PVDF膜, 在含有5%脱脂奶粉的TBST溶液中封闭室温下封闭非特异性抗原2 h, 加入RKIP兔抗人多克隆抗体及鼠抗人 β -actin抗体4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 漂洗后加入HRP标记的山羊抗兔IgG和HRP标记的山羊抗小鼠IgG常温孵育1 h, TBST洗涤, ECL化学发光试剂自显影. RKIP相对含量用RKIP/ β -actin(43 kDa)灰度比值表示, 采用Quantity One软件分析.

1.2.3 细胞转染: 复苏SGC-7901细胞, 待细胞至对数生长期时, 接种SGC-7901细胞于6孔板培养板中, 当细胞长至80%融合率时, 用于转染, 按Lipofectamine2000转染试剂盒说明将

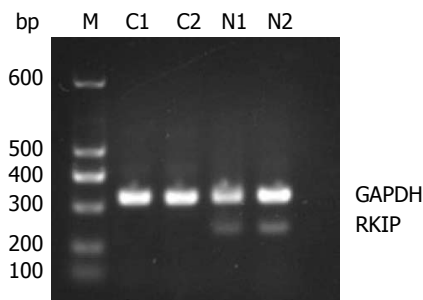


图1 RT-PCR检测胃癌组织及癌旁组织中RKIP mRNA的表达. N1、N2: 癌旁组织; C1、C2: 胃癌组织; M: DNA maker. RKIP: Raf激酶抑制蛋白.

pcDNA3.1(+)-ssRKIP、pcDNA3.1(-)-asRKIP和空白质粒pcDNA3.1(+), pcDNA3.1(-)分别转染SGC-7901细胞, 转染48 h后, 细胞按1:10传代, 用500 mg/LG418的DMEM培养基进行筛选, 4 wk后挑取G418抗性克隆, 扩大培养, Western blot检测RKIP表达.

1.2.4 细胞侵袭能力检测: 采用6孔Transwell小室检测细胞的侵袭能力. 选用8 μ m孔径聚碳酸酯膜, 用Matrigel包被聚碳酸酯膜. 具体步骤如下: (1)用含0.2%FBS的DMEM培养基重悬细胞, 调整细胞数为 2×10^5 /mL; (2)下室中加入500 μ L含10% FBS的DMEM培养基, 上室中加入200 μ L细胞悬液; (3)置于5%CO₂细胞培养箱中常温孵育24 h; (4)用棉签擦去膜上面未穿膜的细胞, 无水乙醇固定20 min, 结晶紫染色20 min, 清水冲洗3遍以上; (5)显微镜下观察穿膜细胞, 随机取高倍镜下5个视野计数取平均值. 实验重复3次.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件包进行统计学分析, 对胃癌组织和癌旁组织中的RKIP mRNA灰度值进行配对 t 检验, 对临床病理因素间的关系进行 χ^2 检验及Fisher确切概率法检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 RKIP在胃癌及癌旁组织中的表达 采用RT-PCR检测RKIP mRNA在74例胃癌及癌旁组织中的表达, RT-PCR产物经检测可见一特异扩增条带, 其分子量大小与预期结果相符(图1). RKIP mRNA在胃癌组织中的表达量相对值为(0.12 \pm 0.02), 癌旁组织中的表达量为(0.48 \pm 0.04), 两组比较差异有统计学意义($t = 6.562$, $P < 0.01$). RKIP的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小无关, 而与患者肿瘤分化程度、淋巴结转移与否、肿瘤TNM分期及是否远传转移有关($P < 0.05$)(表1). 提

■ 相关报道

最新研究证实 RKIP能抑制前列腺癌、恶性黑色素瘤、乳腺癌、结直肠癌、肝癌等多种恶性肿瘤转移, 被认为是一种新的肿瘤转移抑制基因. 然而, RKIP在GC转移中的作用尚未见报道.

■创新盘点

本研究采用RT-PCR及Western blot检测RKIP在胃癌组织及相应癌旁组织中的表达情况,并采用Transwell细胞迁移实验研究分析RKIP表达水平改变对胃癌细胞体外侵袭能力的影响。

表 1 RKIP mRNA的表达与胃癌临床病理特点的关系

临床资料	n	RKIP mRNA表达数		表达阳性率(%)	χ^2 值	P值
		表达	缺失			
性别					1.140	0.286
男	39	9	30	23.1		
女	35	12	23	34.3		
年龄(岁)					0.874	0.350
<55	29	10	19	34.5		
≥55	45	11	34	24.4		
肿瘤大小(cm)					0.501	0.479
<5	41	13	28	31.7		
≥5	33	8	25	24.2		
TNM分期						0.004 ¹
I期	9	7	2	77.8		
II期	14	5	9	35.7		
III期	31	6	25	19.4		
IV期	20	3	17	15.0		
病理分级					9.909	0.007
高分化	18	10	8	55.6		
中分化	26	7	19	26.9		
低分化	30	4	26	13.3		
淋巴结转移					6.236	0.013
阴性	47	18	29	51.4		
阳性	27	3	24	23.1		
远处转移					10.958	0.001
有	19	11	8	57.9		
无	55	10	45	18.2		

¹使用Fisher确切概率法. RKIP: Raf激酶抑制蛋白.

示RKIP表达下调可能与临床胃癌转移有关. 采用Western blot方法检测RKIP在胃癌组织及癌旁组织中的表达,结果显示RKIP在癌组织中的表达量(0.08 ± 0.02)明显低于癌旁正常组织(0.41 ± 0.04),两组比较差异有统计学意义($t = 7.068$, $P < 0.01$)(图2).

2.2 RKIP表达水平对胃癌细胞侵袭能力的影响 为检测RKIP在胃癌细胞转移中的作用,建立了RKIP表达上调的SGC-7901系(SGC-7901-ssRKIP, 图3A),以及RKIP表达下调的SGC-7901细胞系(SGC-7901-asRKIP, 图3A),分析RKIP表达水平改变对胃癌侵袭能力的影响. 结果如图3B所示; RKIP表达上调能抑制SGC-7901细胞的侵袭能力,而RKIP表达下调能增加SGC-7901细胞的侵袭能力, RKIP的表达与胃癌细胞体外侵袭能力负相关.

3 讨论

GC是目前世界上发病率第4位的肿瘤,居消化

系恶性肿瘤发病率及病死率的第2位^[10,11]. 根据GLOBOCAN2008的统计,2008年全球胃癌新发病例98.9万例,中国为46.3万例,占46.8%;同期全球死于胃癌的病例共73.7万例,中国为35.2万例,占47.8%. 在中国胃癌是最常见的癌症死亡原因之一,绝大多数胃癌患者就诊时已处于中晚期,有的甚至已有远处转移,缺乏胃癌早期诊断的敏感、特异性指标,是导致胃癌死亡率高、预后差的主要原因之一.

RKIP是一种高度保守的多功能蛋白,广泛存在于人体的各个组织中^[12]. 人的RKIP定位于12号染色体q24.22,含4个外显子,其转录的mRNA长达1434 bp,编码187个氨基酸组成的蛋白^[13]. 调节许多重要的生理过程如心脏和神经功能,精子发生和生殖行为^[14]. 信号传导通路的异常可促进肿瘤的发生与发展,近年来研究发现, RKIP能抑制Raf-1介导的MEK的磷酸化和活化,抑制MAPK信号传导通路,并参与对G蛋白耦联受体信号通路和核因子

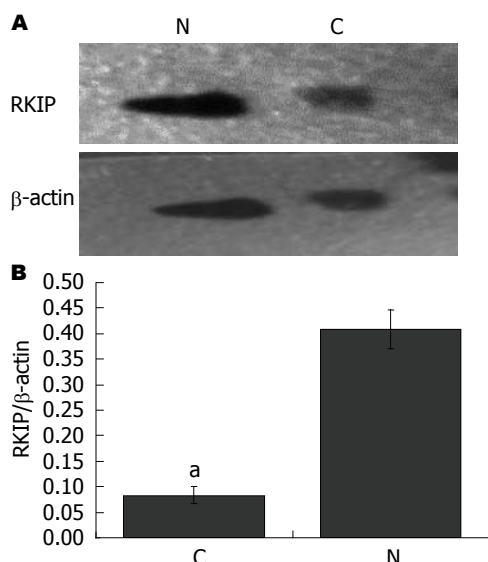


图2 胃癌组织及癌旁组织中RKIP蛋白的表达. A: Western blot结果; B: RKIP蛋白在胃癌组织及癌旁组织组织中的相对表达变化. $^*P<0.05$ vs 癌旁组织. C: 胃癌组织; N: 癌旁组织. RKIP: Raf激酶抑制蛋白.

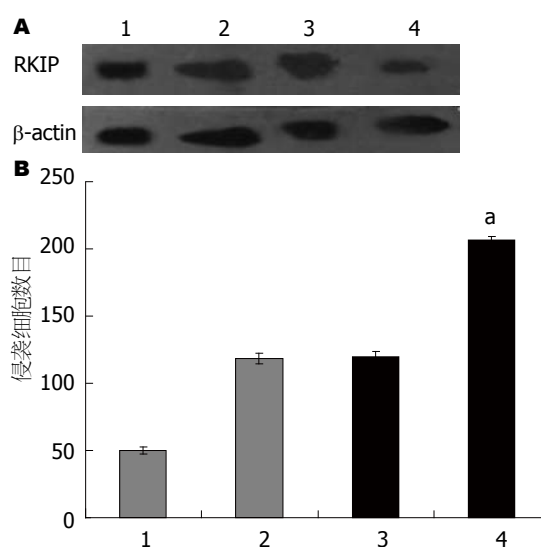


图3 体外侵袭实验. A: Western blot结果显示RKIP在SGC-7901及其转染体内的表达. β-actin做内参; B: 每个视野内SGC-7901及其转染体侵袭细胞数目. 1: 转染正义RKIP; 2、3: 转染空载体; 4: 转染反义RKIP. $^*P<0.05$ vs 转染空载体. RKIP: Raf激酶抑制蛋白.

应用要点
从RKIP的基因水平和蛋白水平检测其在胃癌组织及相应癌旁组织中的表达情况, 并尝试证明RKIP表达水平改变对胃癌细胞体外侵袭能力的影响, 为胃癌的早期诊断及预后提供新的参考指标.

κB(nuclear factor κB, NF-κB)信号通路的调控^[15]. 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路在信号转导中发挥重要作用, 他参与调节细胞增殖、分化及凋亡等细胞活动^[16]. RKIP可以通过结合Raf抑制MEK的磷酸化和活化而抑制该通路, 也可以通过不依赖Raf, 直接与MEK作用, 从而抑制Raf-1-MEK1/2-ERK1/2信号通路, Adlard等^[15]与Yeung等^[17]指出RKIP还参与了NF-κB信号通路的调控, 抑制RKIP的表达, 可以增加NF-κB介导的转录.

Fu等^[4]用免疫组织化学方法检测发现前列腺癌患者原发病灶的病理标本中有RKIP的表达, 但在转移前列腺的病理标本无RKIP的表达, 在转移的肿瘤细胞中增加RKIP的表达, 能减弱体外浸润能力, 而在非转移的癌细胞中减少RKIP表达能增强他们的体外浸润. RKIP抑制恶性黑色素瘤^[18]、乳腺癌^[5]、结直肠癌^[19]、肝癌^[20]等多种恶性肿瘤转移的作用也有报道, 被认为是一种新的肿瘤转移抑制基因.

本研究应用实时定量RT-PCR技术对74例胃癌组织及相对应的癌旁组织进行检测后发现, RKIP mRNA在GC组织中的表达量相对值明显低于在癌旁组织中的表达相对值(0.12 ± 0.02 vs 0.48 ± 0.04 , $t = 6.562$, $P<0.01$). 为进一步明确RKIP在胃癌发生、发展中的作用, 我们采用Western blot对74例胃癌组织及相对应的癌旁组织进行检测后发现, RKIP蛋白在GC组织中

表达明显低于癌旁正常组织(0.08 ± 0.02 vs 0.41 ± 0.04 , $t = 7.068$, $P<0.01$), 且Westren blot检测的RKIP与胃癌的临床病理因素之间的关系同RT-PCT检测的结果基本一致, RKIP的表达与胃癌组织的分化程度、TNM分期和淋巴结转移有关($P<0.05$). 胃癌的分化程度越低, RKIP阳性的表达水平越低; 随着TNM分期的增加, 胃癌组织中的RKIP表达阳性率呈下降趋势, 分期越晚, 表达越低; 有淋巴结转移者中的表达阳性率明显低于无淋巴结转移者($P<0.05$); 在有远处转移者中的表达阳性率明显低于无远处转移者($P<0.05$), 提示RKIP表达下调可能与临床胃癌转移有关. 为了研究RKIP与胃癌转移的关系, 我们采用Transwell细胞侵袭实验结合Western blot来检测RKIP表达水平与体外侵袭能力的关系, 结果提示: 上调RKIP表达水平能抑制SGC-7901的侵袭能力, 而下调RKIP表达水平则能增强SGC-7901的侵袭能力, 从而可以得出结论: RKIP的低表达增强了胃癌细胞的侵袭能力, RKIP很有可能成为胃癌侵袭行为评价的有效指标之一, 用于检测胃癌患者的侵袭潜能.

总之, RKIP在胃癌组织中表达降低或缺失, 且与胃癌细胞的恶性程度和侵袭能力密切相关, 其表达下调/缺失可能促进胃癌转移, RKIP有可能成为肿瘤转移干预治疗的新靶点. 最新研究^[21-27]表明RKIP表达降低或缺失可以诱导肿瘤细胞化疗抵抗, 其作用机制现在还不是特别清楚, 因

■同行评价

本文对进一步的临床研究有较好的借鉴作用。

此对RKIP的研究还有待深入, 为肿瘤的治疗提供新的切入点。

4 参考文献

- Bernier I, Jollès P. Purification and characterization of a basic 23 kDa cytosolic protein from bovine brain. *Biochim Biophys Acta* 1984; 790: 174-181 [PMID: 6435678 DOI: 10.1016/0167-4838(84)90221-8]
- Bernier I, Tresca JP, Jollès P. Ligand-binding studies with a 23 kDa protein purified from bovine brain cytosol. *Biochim Biophys Acta* 1986; 871: 19-23 [PMID: 2938633 DOI: 10.1016/0167-4838(86)90128-7]
- Yeung K, Seitz T, Li S, Janosch P, McFerran B, Kaiser C, Fee F, Katsanakis KD, Rose DW, Mischak H, Sedivy JM, Kolch W. Suppression of Raf-1 kinase activity and MAP kinase signalling by RKIP. *Nature* 1999; 401: 173-177 [PMID: 10490027 DOI: 10.1038/43686]
- Fu Z, Smith PC, Zhang L, Rubin MA, Dunn RL, Yao Z, Keller ET. Effects of raf kinase inhibitor protein expression on suppression of prostate cancer metastasis. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 878-889 [PMID: 12813171]
- Hagan S, Al-Mulla F, Mallon E, Oien K, Ferrier R, Gusterson B, García JJ, Kolch W. Reduction of Raf-1 kinase inhibitor protein expression correlates with breast cancer metastasis. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7392-7397 [PMID: 16243812 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0283]
- Schuijter MM, Bataille F, Hagan S, Kolch W, Bosserhoff AK. Reduction in Raf kinase inhibitor protein expression is associated with increased Ras-extracellular signal-regulated kinase signaling in melanoma cell lines. *Cancer Res* 2004; 64: 5186-5192 [PMID: 15289323 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3861]
- Washington K. 7th edition of the AJCC cancer staging manual: stomach. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3077-3079 [PMID: 20882416 DOI: 10.1245/s10434-010-1362-z]
- Santiago JM, Sasako M, Osorio J. [TNM-7th edition 2009 (UICC/AJCC) and Japanese Classification 2010 in Gastric Cancer. Towards simplicity and standardisation in the management of gastric cancer]. *Cir Esp* 2011; 89: 275-281 [PMID: 21256476 DOI: 10.1016/j.ciresp.2010.10.011]
- Yoo BC, Ku JL, Hong SH, Shin YK, Park SY, Kim HK, Park JG. Decreased pyruvate kinase M2 activity linked to cisplatin resistance in human gastric carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 2004; 108: 532-539 [PMID: 14696117 DOI: 10.1002/ijc.11604]
- Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 354-362 [PMID: 16489633]
- Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 60-69 [PMID: 17200707 DOI: 10.1172/JCI30111]
- Yamazaki T, Nakano H, Hayakari M, Tanaka M, Mayama J, Tsuchida S. Differentiation induction of human keratinocytes by phosphatidylethanolamine-binding protein. *J Biol Chem* 2004; 279: 32191-32195 [PMID: 15155742 DOI: 10.1074/jbc.M404029200]
- Simister PC, Banfield MJ, Brady RL. The crystal structure of PEBP-2, a homologue of the PEBP/RKIP family. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2002; 58: 1077-1080 [PMID: 12037323]
- Keller ET, Fu Z, Brennan M. The role of Raf kinase inhibitor protein (RKIP) in health and disease. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 1049-1053 [PMID: 15313400 DOI: 10.1016/j.bcp.2004.04.024]
- Adlard PA, Bush AI. Metals and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006; 10: 145-163 [PMID: 17119284]
- Marais R, Marshall CJ. Control of the ERK MAP kinase cascade by Ras and Raf. *Cancer Surv* 1996; 27: 101-125 [PMID: 8909797]
- Yeung KC, Rose DW, Dhillon AS, Yaros D, Gustafsson M, Chatterjee D, McFerran B, Wyche J, Kolch W, Sedivy JM. Raf kinase inhibitor protein interacts with NF-kappaB-inducing kinase and TAK1 and inhibits NF-kappaB activation. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 7207-7217 [PMID: 11585904 DOI: 10.1128/MCB.21.21.7207-7217.2001]
- Park S, Yeung ML, Beach S, Shields JM, Yeung KC. RKIP downregulates B-Raf kinase activity in melanoma cancer cells. *Oncogene* 2005; 24: 3535-3540 [PMID: 15782137 DOI: 10.1038/sj.onc.1208435]
- Minoo P, Zlobec I, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, Jass JR, Lugli A. Loss of raf-1 kinase inhibitor protein expression is associated with tumor progression and metastasis in colorectal cancer. *Am J Clin Pathol* 2007; 127: 820-827 [PMID: 17439843 DOI: 10.1309/5D7MM22DAVGD1R8]
- Lee HC, Tian B, Sedivy JM, Wands JR, Kim M. Loss of Raf kinase inhibitor protein promotes cell proliferation and migration of human hepatoma cells. *Gastroenterology* 2006; 131: 1208-1217 [PMID: 17030190 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.07.012]
- Baritaki S, Bonavida B. Viral infection and cancer: the NF-kappaB/Snail/RKIP loop regulates target cell sensitivity to apoptosis by cytotoxic lymphocytes. *Crit Rev Immunol* 2010; 30: 31-46 [PMID: 20370618]
- Baritaki S, Katsman A, Chatterjee D, Yeung KC, Spandidos DA, Bonavida B. Regulation of tumor cell sensitivity to TRAIL-induced apoptosis by the metastatic suppressor Raf kinase inhibitor protein via Yin Yang 1 inhibition and death receptor 5 up-regulation. *J Immunol* 2007; 179: 5441-5453 [PMID: 17911631]
- Baritaki S, Yeung K, Palladino M, Berenson J, Bonavida B. Pivotal roles of snail inhibition and RKIP induction by the proteasome inhibitor NPI-0052 in tumor cell chemosensitization. *Cancer Res* 2009; 69: 8376-8385 [PMID: 19843864 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1069]
- Chatterjee D, Bai Y, Wang Z, Beach S, Mott S, Roy R, Braastad C, Sun Y, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB, Darnowski J, Pantazis P, Wyche J, Fu Z, Kitagawa Y, Keller ET, Sedivy JM, Yeung KC. RKIP sensitizes prostate and breast cancer cells to drug-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 17515-17523 [PMID: 14766752 DOI: 10.1074/jbc.M313816200]
- Ruan L, Wang GL, Yi H, Chen Y, Tang CE, Zhang PF, Li MY, Li C, Peng F, Li JL, Chen ZC, Xiao ZQ. Raf kinase inhibitor protein correlates with sensitivity of nasopharyngeal carcinoma to radiotherapy. *J Cell Biochem* 2010; 110: 975-981 [PMID: 20564197 DOI: 10.1002/jcb.22611]
- Woods Ignatoski KM, Grewal NK, Markwart SM,

Vellaichamy A, Chinnaiyan AM, Yeung K, Ray ME, Keller ET. Loss of Raf kinase inhibitory protein induces radioresistance in prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 153-160 [PMID: 18722266 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.04.072]

27 Wu K, Bonavida B. The activated NF-kappaB-Snail-RKIP circuitry in cancer regulates both the metastatic cascade and resistance to apoptosis by cytotoxic drugs. *Crit Rev Immunol* 2009; 29: 241-254 [PMID: 19538137]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

糖尿病患者胃癌发病风险增加的荟萃分析

陆丽华, 董跃滨

■背景资料

研究表明在糖尿病人群中多种恶性肿瘤患病率明显上升, 糖尿病与胃癌发病之间的相关研究结果不一致, 荟萃分析可通过整合数据而得出可靠结论。

陆丽华, 董跃滨, 上海市第七人民医院消化内科 上海市 200137

陆丽华, 主要从事胃肠疾病的诊治, 尤其擅长胃癌、肠癌、炎症性肠病的诊治。

作者贡献分布: 此课题由陆丽华设计; 研究过程由陆丽华与董跃滨完成; 论文由陆丽华完成; 文章修改与审阅由董跃滨完成。

通讯作者: 董跃滨, 200137, 上海市大同路358号, 上海市第七人民医院消化内科. yuebindong@126.com

电话: 021-58670561

收稿日期: 2013-08-02 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Diabetes mellitus increases the risk of gastric cancer: A meta-analysis

Li-Hua Lu, Yue-Bin Dong

Li-Hua Lu, Yue-Bin Dong, Department of Gastroenterology, Shanghai Seventh People's Hospital, Shanghai 200137, China

Correspondence to: Yue-Bin Dong, Department of Gastroenterology, Shanghai Seventh People's Hospital, 358 Datong Road, Shanghai 200137, China. yuebindong@126.com

Received: 2013-08-02 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To systematically assess the association between diabetes mellitus and the risk of gastric cancer.

METHODS: We searched Medline (PubMed), EMBASE, the Cochrane Library and CBN databases from January 1990 to July 2013. We also searched the references of qualifying articles. Cohort studies comparing the risk of gastric cancer between diabetic patients and control subjects were included. Fifteen studies met our criteria, and the quality of these studies was assessed using the Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale. Meta-analysis was performed using the random-effects model (DerSimonian-Laird method).

RESULTS: The meta-analysis showed an increased gastric cancer risk in diabetic patients [relative risk (RR) = 1.15, 95%CI: 1.11-1.19].

CONCLUSION: Diabetes mellitus may increase

the risk of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diabetes mellitus; Gastric cancer; Incidence; Meta-analysis

Lu LH, Dong YB. Diabetes mellitus increases the risk of gastric cancer: A meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(34): 3870-3875 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3870>

摘要

目的: 探索糖尿病与胃癌发生的病因学联系。

方法: 检索美国一项索引(MedLine)、荷兰医学文摘(EMBASE)、Cochrane图书馆和中国生物医学文献数据库(1990-01/2013-07)国内外公开发表的关于糖尿病患者的胃癌发病率的前瞻性队列研究, 共有15项研究符合纳入标准。我们以NOS评定量表(Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale)为依据进行质量评价, 使用STATA12.0软件, 选用DerSimonian-Laird的随机效应模型。

结果: 与对照组相比, 糖尿病患者经Meta分析后的发生胃癌的相对危险度(relative risk, RR)值为1.15, 95%CI: 1.11-1.19, 提示糖尿病患者胃癌发病风险增加。

结论: 糖尿病患者的胃癌发病风险增加。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 糖尿病; 胃癌; 发病率; 荟萃分析

核心提示: 经荟萃分析, 与对照组相比, 糖尿病患者发生胃癌的相对危险度值为1.15, 95%CI: 1.11-1.19, 提示糖尿病患者胃癌发病风险增加。

陆丽华, 董跃滨. 糖尿病患者胃癌发病风险增加的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3870-3875 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3870>

■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

0 引言

糖尿病是临床常见病、多发病, 杨文英教授于2010年发表在《新英格兰杂志》关于中国人糖尿病发病率的最新数据: 年龄标化的总糖尿病患病率和糖尿病前期患病率分别为9.7%和15.5%, 据此推算, 中国9240万例有糖尿病, 1.482亿成年人处于糖尿病前期^[1]. 国内外大量研究表明, 在糖尿病人群中恶性肿瘤患病率明显上升, 如大肠癌、子宫内膜癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌^[2,3].

胃癌是极其常见的恶性肿瘤, 在世界范围内最常见的恶性肿瘤中排名第4位^[4], 其治疗难度大, 预后差. 在治疗上, 手术切除是目前唯一可能根治胃癌的手段, 但仅限于病变较早的I期胃癌. 而中晚期胃癌手术及放化疗效果差, 医疗花费巨大, 术后5年生存率一般仅30%-50%. 因此在预防医学中, 提倡胃癌的早预防、早发现、早治疗.

本文以荟萃分析的方法, 整合此前已有的糖尿病与胃癌之间病因学联系的多项研究数据, 而得出可靠的结论. 此结论可为糖尿病患者胃癌的早发现、早治疗提供可靠的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 通过下列途径收集文献资料: (1)电子数据库检索包括MedLine(PubMed)、EMBASE、Cochrane图书馆和中国生物医学文献数据库; (2)检索词包括diabetes(glucose, diabetes, or hyperglycemia), gastric cancer (stomach cancer, gastric cancer, stomach malignant neoplasm, or gastric malignant neoplasm), and risk (incidence, prevalence, or risk), 检索文献无限制语言; (3)手工检索: 查阅所获资料的参考文献索引, 手工检索相应文献.

1.2 方法

1.2.1 资料选择: 纳入与排除标准: 纳入标准: (1)1990-01/2013-07公开发表的有关糖尿病患者中胃癌发病率的前瞻性队列研究; (2)糖尿病患者诊断1年后明确诊断为胃癌; (3)能够提供确切的RR值及其95%可信区间; (4)随访时间为8年以上的研究. 排除标准: (1)综述、教科书内容、读者来信、社论、述评、病例对照研究等; (2)剔除重复报告、质量差、报道信息太少及无法利用的队列研究; (3)如果是同一队列的重复报告, 则仅保留资料最新、最完整的研究报道; (4)随访时间短于8年的研究.

1.2.2 入选文献的质量评价: 分别由2位研究者独立阅读所搜集文献的标题、摘要和全文以选定符合纳入标准的文献, 并对每一篇符合纳入标准的文献进行评价, 不同意见通过讨论解决. 质量评分标准采用NOS质量评定量表(Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale). 纳入的队列研究均考虑了混杂因素(如年龄、性别、吸烟史、饮酒史、体质量等)对RR的影响, 并进行了调整.

统计学处理 使用STATA12.0软件, 选用DerSimonian-Laird的随机效应模型. 因各文献用糖尿病患者的胃癌发病率为计数资料进行比较, 故在分析时用相对危险度(relative risk, RR)和95%CI为统计指标. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 我们还报道了 I^2 的异质性评估值. 使用漏斗图来评价发表偏倚.

2 结果

2.1 检索结果 共检索到2380篇相关文献, 复习后排除了2362篇相关研究, 最终只有15项研究符合选择标准^[5-19](表1). 亚洲有5项研究被纳入, 另7项研究在欧洲进行, 澳大利亚1项研究、美国2项研究符合纳入标准. 入选的研究人群多诊断糖尿病1年以后明确诊断为胃癌, 仅两项研究另外^[13,18]. 各文献中研究人群的年龄和随访时间(8-43年)差异较大.

2.2 糖尿病患者中胃癌的发病率 荟萃分析显示糖尿病与胃癌关系的相对危险度 $RR = 1.15$, $95\%CI: 1.11-1.19$, $I^2 = 78.4\%$ (图1).

2.3 入选研究质量评估 使用NOS质量评定量表对文献进行评分. 评价项目主要包括对象选择、可比性、结局(队列研究)共3个项目, 每个项目下设评价条目. 本次荟萃分析纳入的均是高质量的文献(NOS评分 ≥ 8).

2.4 异质性及偏倚分析 结果显示15项研究存在较高的异质性, $I^2 = 78.4\%$, 故选用随机效应模型进行合并分析. 将15项研究绘制成漏斗图(图2), 该图近似漏斗状, 呈对称图形, 可认为入选文献没有显著的发表偏倚.

2.5 亚组分析 以地理位置区分亚组, 共分为亚洲(5篇文献)、欧洲(7篇文献)、美洲(仅美国2篇文献)、大洋洲(仅澳大利亚1篇文献), 未发现明显的地区差别. 同样, 研究显示性别与此无明显关系.

3 讨论

本荟萃分析证实糖尿病患者胃癌发病风险增

■研究前沿

世界范围内有多项关于糖尿病与胃癌之间的病因学联系的队列研究和病例的对照研究.

■相关报道

Tian等和Yoon等的两项研究均与本文得到的结论一致。Marimuthu的荟萃分析因其纳入标准、排除标准不同,得到不同结论。

表 1 入选研究及其特征

纳入的研究	国家	<i>n</i>	年龄(岁)	随访年限	RR (95%CI)
Wideroff等 ^[5] 1997	丹麦	109581	不限	17	男1.2(1.0–1.3) 女1.1(1.0–1.4)
Swerdlow等 ^[6] 2005	英国	29701	<49	35	<30岁组1.2(0.48–2.47) 30–49岁组0.77(0.40–1.35)
Jee等 ^[7] 2005	韩国	1298385	30–95	10	男1.11 (1.04–1.2) 女1.15 (0.99–1.34)
Rapp等 ^[8] 2006	澳大利亚	140813	>19	14	0.84 (0.38–1.87)
Inoue等 ^[9] 2006	日本	133084	40–69	14	男1.09 (0.79–1.5) 女1.92 (1.06–3.47)
Khan等 ^[10] 2006	日本	56881	40–79	10	男0.72 (0.40–1.09) 女0.26 (0.08–0.82)
Ikeda等 ^[11] 2009	日本	2603	≤40	14	2.69 (1.24–5.85)
Ogunleye等 ^[12] 2009	英国	9577	不限	11	0.77 (0.36–1.66)
Chodick等 ^[13] 2010	以色列	16721	≥21	8	男1.44 (0.98–2.11) 女0.99 (0.55–1.80)
Shu等 ^[14] 2010	瑞典	24052	< 21	42	3.31(1.41–6.56)
Hemminki等 ^[15] 2010	瑞典	125126	>39	43	1.51(1.35–1.68)
Lin等 ^[16] 2011	美国	469448	50–71	10	男1.52(1.21–1.92) 女1.62(0.98–2.68)
Atchison等 ^[17] 2011	美国	594815	>18	27	0.95(0.89–1.02)
Wotton等 ^[18] 2011	英国	15898	≥ 30	35	ORLS1 1.11 (0.89–1.37) ORLS2 2.05 (1.30–3.10)
Carstensen等 ^[19] 2012	丹麦	7771 未提供数据	不限	15	男1.28 (1.15–1.43) 女1.34 (1.14–1.58)

加, 与以前的研究^[20,21]一致(RR = 1.11^[20], 95%CI: 1.00–1.24^[21]; RR = 1.19, 95% CI: 1.08–1.31)。一项2011年^[22]的荟萃分析因其纳入标准、排除标准不同, 得到不同的结论。

关于糖尿病患者胃癌发病风险增加的潜在机制, 有以下几点: (1)有众多证据表明糖尿病可导致多种癌症的高发: 糖尿病早期胰岛素浓度增加刺激细胞增殖, 激活胰岛素受体或胰岛素样生长因子-I受体(insulin-like growth factor I receptor, IGF-IR)和抑制胰岛素样生长因子结合蛋白, 增加胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-I, IGF-I)浓度。高胰岛素血症已被证明可导致胃肠道癌的发病风险增加^[23]; 糖尿病患者的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)增高。血管内皮生长因子与肿瘤血行转移、淋巴转移、肝转移等相关^[24]。更重要的是IGF/IGF-IR轴与VEGF/VEGFR系统相互作用, 促进胃肠道恶性肿瘤的发生和进展^[25]; 实验证实高血糖直接导致DNA损伤; (2)幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的作用。*H. pylori*是一种革兰阴性杆菌, 专一性定居于人胃, 大

量研究表明*H. pylori*感染与胃癌的存在或发展相关^[26]。然而, 并非所有*H. pylori*感染者均进展为胃癌, 提示*H. pylori*介导的致癌过程需要其他的辅助因子。Khan等^[10]的研究提示空腹血糖>5.8 mmol/L且*H. pylori*阴性者其胃癌的RR为1.5(0.5–5.2), 空腹血糖>5.8 mmol/L且*H. pylori*阳性者其RR为4.2(1.6–11.1), 这项研究表明高血糖在*H. pylori*相关的致癌过程中发挥重要的调节作用。一些研究报道糖尿病患者*H. pylori*感染率高而根除率低, 提示*H. pylori*和高血糖之间存在互动^[27]。*H. pylori*可通过增加胃泌素, 促进胰岛素释放, 从而导致高胰岛素血症^[28]。他也可促进胰岛素抵抗和相关的氧化应激^[29], 从而导致胃黏膜相关的致癌过程。

3.1 型糖尿病与胃癌的关联 瑞典的队列研究^[30]共纳入30000例1型糖尿病患者, 证实1型糖尿病患者胃癌的发病率增高(RR = 2.3, 95%CI: 1.1–4.1)。另一项欧洲的研究^[6], <30岁的糖尿病患者(主要为1型糖尿病)胃癌的RR为1.2(0.48–2.47), 相对比30–49岁组RR = 0.77(0.40–1.35)高。恶性贫血和*H. pylori*可协同

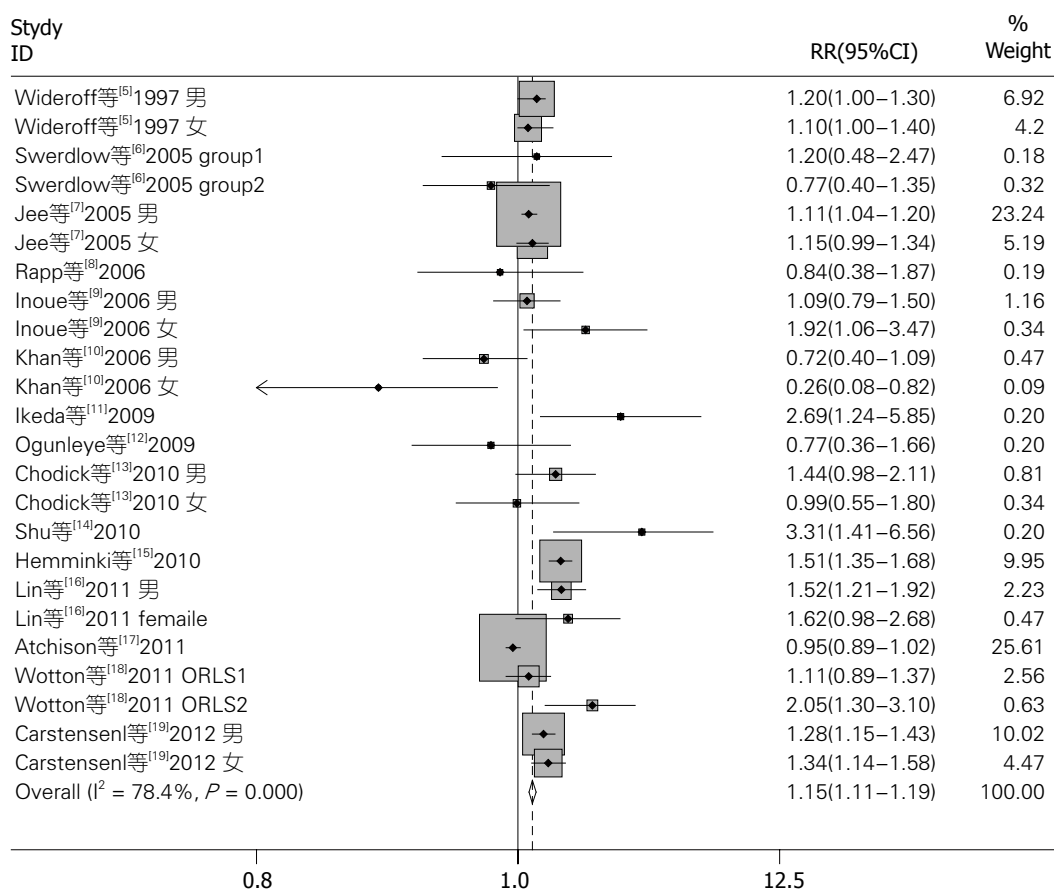


图1 糖尿病患者胃癌发病率的森林图。

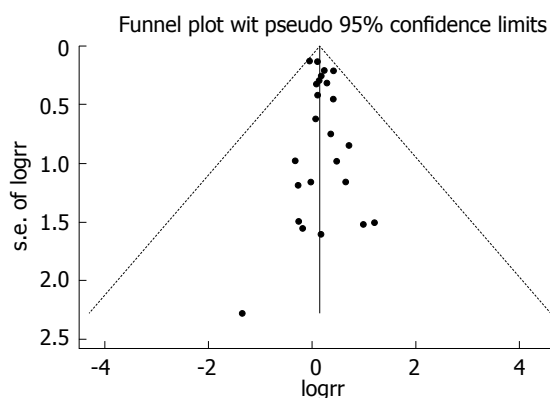


图2 15项入选研究漏斗图。

导致1型糖尿病患者的胃癌风险增加。1型糖尿病患者中 $H. pylori$ 感染更普遍^[31]。

本荟萃分析纳入的是NOS评分 ≥ 8 的高质量文献,均为大规模的队列研究,糖尿病患者诊断1年后经胃镜或手术、病理等明确诊断为胃癌(时间上符合因果关系),糖尿病及胃癌均按照当时的诊疗指南进行诊断,以上均为保证结论真实客观的有利条件。

本荟萃分析纳入的15项研究存在较高的异质性, $I^2 = 78.4\%$,对结果的解释应谨慎。其中一

篇文献^[11]按照当时的诊断标准选择糖尿病患者,分析资料时却用糖化血红蛋白 $>7.0\%$ 来代表糖尿病组,提醒我们需设置更严格的纳入标准。

本荟萃分析提示糖尿病患者胃癌的发病率上升。本研究提示糖代谢异常可促进肿瘤的发生与发展、 $H. pylori$ 感染与胃癌的存在或发展相关,且两者有协同致癌作用。1型糖尿病患者发病早,血糖控制差, $H. pylori$ 感染率高,其胃癌的发病风险更高。进一步的研究可着重于糖尿病患者发生胃癌的具体机制及相应的治疗措施。

4 参考文献

- Yang W, Lu J, Weng J, Jia W, Ji L, Xiao J, Shan Z, Liu J, Tian H, Ji Q, Zhu D, Ge J, Lin L, Chen L, Guo X, Zhao Z, Li Q, Zhou Z, Shan G, He J, China National Diabetes and Metabolic Disorders Study Group. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med* 2010; 362: 1090-1101 [PMID: 20335585 DOI: 10.1056/NEJMoa0908292]
- Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergental RM, Gapstur SM, Habel LA, Pollak M, Regensteiner JG, Yee D. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care* 2010; 33: 1674-1685 [PMID: 20587728 DOI: 10.2337/dc10-0666]
- Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Diabe-

■创新盘点

目前国内尚未有糖尿病与胃癌之间的病因学联系的荟萃分析。

■应用要点

本文提示糖尿病患者胃癌发病风险增加,有助于糖尿病患者胃癌的早期发现、早期治疗。

- 4 Herszényi L, Tulassay Z. Epidemiology of gastrointestinal and liver tumors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 249-258 [PMID: 20496531]
- 5 Wideroff L, Gridley G, Mellemkjaer L, Chow WH, Linet M, Keehn S, Borch-Johnsen K, Olsen JH. Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1360-1365 [PMID: 9308706 DOI: 10.1093/jnci/89.18.1360]
- 6 Swerdlow AJ, Laing SP, Qiao Z, Slater SD, Burden AC, Botha JL, Waugh NR, Morris AD, Gatling W, Gale EA, Patterson CC, Keen H. Cancer incidence and mortality in patients with insulin-treated diabetes: a UK cohort study. *Br J Cancer* 2005; 92: 2070-2075 [PMID: 15886700 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602611]
- 7 Jee SH, Ohrr H, Sull JW, Yun JE, Ji M, Samet JM. Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. *JAMA* 2005; 293: 194-202 [PMID: 15644546 DOI: 10.1001/jama.293.2.194]
- 8 Rapp K, Schroeder J, Klenk J, Ulmer H, Concin H, Diem G, Oberaigner W, Weiland SK. Fasting blood glucose and cancer risk in a cohort of more than 140,000 adults in Austria. *Diabetologia* 2006; 49: 945-952 [PMID: 16557372 DOI: 10.1007/s00125-006-0207-6]
- 9 Inoue M, Iwasaki M, Otani T, Sasazuki S, Noda M, Tsugane S. Diabetes mellitus and the risk of cancer: results from a large-scale population-based cohort study in Japan. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1871-1877 [PMID: 17000944 DOI: 10.1001/archinte.166.17.1871]
- 10 Khan M, Mori M, Fujino Y, Shibata A, Sakauchi F, Washio M, Tamakoshi A. Site-specific cancer risk due to diabetes mellitus history: evidence from the Japan Collaborative Cohort (JACC) Study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 253-259 [PMID: 16839219]
- 11 Ikeda F, Doi Y, Yonemoto K, Ninomiya T, Kubo M, Shikata K, Hata J, Tanizaki Y, Matsumoto T, Iida M, Kiyohara Y. Hyperglycemia increases risk of gastric cancer posed by *Helicobacter pylori* infection: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2009; 136: 1234-1241 [PMID: 19236964 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.045]
- 12 Ogunleye AA, Ogston SA, Morris AD, Evans JM. A cohort study of the risk of cancer associated with type 2 diabetes. *Br J Cancer* 2009; 101: 1199-1201 [PMID: 19690547 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605240]
- 13 Chodick G, Heymann AD, Rosenmann L, Green MS, Flash S, Porath A, Kokia E, Shalev V. Diabetes and risk of incident cancer: a large population-based cohort study in Israel. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 879-887 [PMID: 20148361 DOI: 10.1007/s10552-010-9515-8]
- 14 Shu X, Ji J, Li X, Sundquist J, Sundquist K, Hemminki K. Cancer risk among patients hospitalized for Type 1 diabetes mellitus: a population-based cohort study in Sweden. *Diabet Med* 2010; 27: 791-797 [PMID: 20636960 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2010.03011.x]
- 15 Hemminki K, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of cancer following hospitalization for type 2 diabetes. *Oncologist* 2010; 15: 548-555 [PMID: 20479278 DOI: 10.1634/theoncologist.2009-0300]
- 16 Lin SW, Freedman ND, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Prospective study of self-reported diabetes and risk of upper gastrointestinal cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 954-961 [PMID: 21415356 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1244]
- 17 Atchison EA, Gridley G, Carreon JD, Leitzmann MF, McGlynn KA. Risk of cancer in a large cohort of U.S. veterans with diabetes. *Int J Cancer* 2011; 128: 635-643 [PMID: 20473855 DOI: 10.1002/ijc.25362]
- 18 Wotton CJ, Yeates DG, Goldacre MJ. Cancer in patients admitted to hospital with diabetes mellitus aged 30 years and over: record linkage studies. *Diabetologia* 2011; 54: 527-534 [PMID: 21116605 DOI: 10.1007/s00125-010-1987-2]
- 19 Carstensen B, Witte DR, Friis S. Cancer occurrence in Danish diabetic patients: duration and insulin effects. *Diabetologia* 2012; 55: 948-958 [PMID: 22120574 DOI: 10.1007/s00125-011-2381-4]
- 20 Tian T, Zhang LQ, Ma XH, Zhou JN, Shen J. Diabetes mellitus and incidence and mortality of gastric cancer: a meta-analysis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2012; 120: 217-223 [PMID: 22187293 DOI: 10.1055/s-0031-1297969]
- 21 Yoon JM, Son KY, Eom CS, Durrance D, Park SM. Pre-existing diabetes mellitus increases the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 936-945 [PMID: 23429469 DOI: 10.3748/wjg.v19.i6.936]
- 22 Marimuthu SP, Vijayaragavan P, Moysich KB, Jayaprakash V. Diabetes mellitus and gastric carcinoma: Is there an association? *J Carcinog* 2011; 10: 30 [PMID: 22190872 DOI: 10.4103/1477-3163.90481]
- 23 Giovannucci E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. *J Nutr* 2001; 131: 3109S-3120S [PMID: 11694656]
- 24 Pavelić K, Kolak T, Kapitanović S, Radosević S, Spaventi S, Kruslin B, Pavelić J. Gastric cancer: the role of insulin-like growth factor 2 (IGF 2) and its receptors (IGF 1R and M6-P/IGF 2R). *J Pathol* 2003; 201: 430-438 [PMID: 14595755 DOI: 10.1002/path.1465]
- 25 Akagi Y, Liu W, Zebrowski B, Xie K, Ellis LM. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer by insulin-like growth factor-I. *Cancer Res* 1998; 58: 4008-4014 [PMID: 9731515]
- 26 Tseng CH. Diabetes conveys a higher risk of gastric cancer mortality despite an age-standardised decreasing trend in the general population in Taiwan. *Gut* 2011; 60: 774-779 [PMID: 21193459 DOI: 10.1136/gut.2010.226522]
- 27 Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J, Thun MJ. Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 1160-1167 [PMID: 15191933 DOI: 10.1093/aje/kwh161]
- 28 Batty GD, Shipley MJ, Marmot M, Smith GD. Diabetes status and post-load plasma glucose concentration in relation to site-specific cancer mortality: findings from the original Whitehall study. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 873-881 [PMID: 15577289 DOI: 10.1007/s10552-004-1050-z]
- 29 Smith GD, Egger M, Shipley MJ, Marmot MG. Post-challenge glucose concentration, impaired glucose tolerance, diabetes, and cancer mortality in men. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1110-1114 [PMID: 1462971]
- 30 Zendejdel K, Nyrén O, Ostenson CG, Adami HO, Ek-

- bom A, Ye W. Cancer incidence in patients with type 1 diabetes mellitus: a population-based cohort study in Sweden. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1797-1800 [PMID: 14652242 DOI: 10.1093/jnci/djg105]
- 31 De Block CE, De Leeuw IH, Van Gaal LF. High

prevalence of manifestations of gastric autoimmunity in parietal cell antibody-positive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. The Belgian Diabetes Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4062-4067 [PMID: 10566650 DOI: 10.1210/jc.84.11.4062]

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价

糖尿病与很多癌症的发病风险增加已经达成共识,但与胃癌发病风险关系的研究还未有定论,本研究选题有一定意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益,本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。

原发性肝癌肝移植治疗的病例选择及对策

吴星宇, 仇毓东, 丁义涛

■背景资料

我国是世界上肝癌发病最集中的国家, 发病人数约占全球人数的30%-40%, 但是目前对于肝癌肝移植并无统一标准。经过大量肝癌肝移植实践, 国内已经积累了一定的经验, 同时也存在适应证掌握不严格的问题。为进一步规范肝移植的治疗, 为得到更好的治疗效果, 我们按照循证医学的原则行相关研究, 为临床肝癌肝移植的治疗提供一定参考。

吴星宇, 仇毓东, 丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008

吴星宇, 副主任医师, 主要从事肝脏移植的研究。

作者贡献分布: 吴星宇与仇毓东负责临床工作与论文撰写; 丁义涛为项目负责人。

通讯作者: 丁义涛, 教授, 主任医师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科。

njwxy1998@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-07-18 修回日期: 2013-11-01

接受日期: 2013-11-18 在线出版日期: 2013-12-08

Criteria for case selection and perioperative management in liver transplantation for primary liver carcinoma

Xing-Yu Wu, Yu-Dong Qiu, Yi-Tao Ding

Xing-Yu Wu, Yu-Dong Qiu, Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanjing Drumtower Hospital, Affiliated Hospital of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yi-Tao Ding, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanjing Drumtower Hospital, Affiliated Hospital of Nanjing University, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. njwxy1998@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-18 Revised: 2013-11-01

Accepted: 2013-11-18 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To summarize our experience with the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) by liver transplantation.

METHODS: The clinic data for 46 HCC patients treated by liver transplantation from November 2005 to January 2011 were analyzed retrospectively. The effects of factors such as the number and diameter of tumors, vascular invasion and perioperative management on the prognosis were analyzed.

RESULTS: Piggy-back liver transplantation was performed in 42 cases, and conventional liver transplantation was performed in 4 cases. Liver transplantation was successful in 45 cases, and 19 patients are still alive. The longest tumor-free survival was 63 mo. Recurrence occurred in 2 patients at 2 and 17 mo after operation, respectively.

CONCLUSION: Portal vein invasion should be the contradiction for liver transplantation. Modified piggy-back liver transplantation could be the choice for the treatment of primary liver carcinoma. Perioperative management with cool-tip radiofrequency ablation (RFA) is beneficial to the prognosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver transplantation; Hepatocellular carcinoma

Wu XY, Qiu YD, Ding YT. Criteria for case selection and perioperative management in liver transplantation for primary liver carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3876-3880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3876.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3876>

摘要

目的: 总结施行同种异体肝移植治疗原发性肝癌经验。

方法: 回顾性分析2005-11/2011-01我院经肝移植治疗46例原发性肝癌患者的病灶数目、大小、血管浸润和围手术期处理探讨与肝癌术后复发的关系。

结果: 采用背驮式肝移植42例, 经典式4例, 其中1例采用术中静脉转流, 手术成功45例, 19例存活至今, 最长无瘤存活时间63 mo。术后病理证实均为肝细胞性肝癌。2例患者分别于术后2、17 mo肿瘤复发。

结论: 门静脉一、二级分支的癌栓是肝移植的禁忌证。改良背驮式肝移植术可以成为原发性肝癌的有效治疗方法。术前采用冷循环射线的局部治疗是肝移植术前治疗的理想选择。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝移植; 原发性肝癌

核心提示: 在肝癌肝移植相关治疗中, 严格把握

■同行评议者

朱亮, 副教授, 大连医科大学生理教研室

好手术适应证和禁忌证是关键, 完备的术前检查是前提, 联合TACE术或者射频固化治疗能有很好的辅助效果。术中对于解剖清楚认识和仔细操作是手术成功的必要条件, 围手术期的精细处理是不可缺少的措施。

吴星宇, 仇毓东, 丁义涛. 原发性肝癌肝移植治疗的病例选择及对策. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3876-3880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3876.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3876>

0 引言

肝移植目前被公认为治疗各种终末期肝病的最为有效的治疗手段。我院2005-11/2011-01对46例肝细胞肝癌合并终末期肝病患者进行了同种异体肝移植术, 现将临床经验进行总结和分析。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2005-11/2011-01我院收治的肝细胞肝癌合并终末期肝病患者46例, 男42例, 女4例, 年龄39-62岁, 平均年龄为49.5岁, 入院诊断均为肝细胞肝癌, 乙型肝炎后肝硬化, 肝功能评分均为Child-Pugh C级; 其中5例为肝癌切除术后复发, 5例患者术前接受冷循环射频固化治疗, 3例患者术前接受TACE治疗^[1](表1)。

1.2 方法

1.2.1 供肝的切取技术: 采用快速联合肝肾切取技术, 供肝热缺血时间<5 min, 冷保存时间<10 h^[2,3]。

1.2.2 病肝切除: 本组46例患者术中见肝脏呈明显肝硬化表现, 腹腔均无种植病灶, 肝门部淋巴结无肿大。门静脉、肝静脉主干及一级分支均无癌栓。探查明确指征后, 先分离第一肝门, 依次游离出肝固有动脉、胆总管、门静脉, 先切断供应肿瘤侧肝脏的血管分支, 再游离肝脏周围韧带。42例采用背驮式肝移植, 少许分离第三肝门, 逐次缝扎切断所遇肝短静脉^[4]。4例采用经典式肝脏移植, 1例术中采用静脉转流, 然后游离肝脏周围韧带的方法。病肝切除后常规剖开标本检查病灶数目、大小、有无肉眼可见的肿瘤血管浸润。

1.2.3 供肝植入技术: 46例肝移植术中, 42例采用改良背驮式肝移植, 暂时性阻断肝上下腔静脉和肝下腔静脉, 行受体腔静脉成形, 切除部分腔静脉前壁, 修剪成倒三角形开口, 行供受体腔静脉端侧吻合重建流出道^[5]。

2 结果

2.1 手术 46例患者中, 手术成功45例(图1), 1例因术中肺栓塞死亡。5例术前行冷循环射频治疗的患者, 术前复查增强CT示病灶均为低密度坏死改变, 复查甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)2例患者示阴性, 3例患者均<100 ng/mL。术中见病灶大部固化坏死, 术后均为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 9例存在显微镜下肿瘤血管浸润。

2.2 术后并发症 7例术后出现并发症。动脉栓塞3例, 均为术前多次行TACE的患者。1例术后10 d出现急性肝动脉栓塞, 急诊手术取栓, 行抗凝治疗后好转, 患者存活。2例手术30 d后发生慢性肝动脉栓塞, 出现胆道狭窄、胆漏。1例于术后175 d死于肝脏功能衰竭。另1例于术后122 d行再次肝移植, 术后恢复良好, 存活至今。胆道并发症2例, 均出现胆漏合并严重腹腔感染和肺部感染, 分别于术后33、47 d死亡。流出道梗阻2例, 均行传统的背驮式肝移植, 术后出现严重腹水合并腹腔感染, 分别于术后91、118 d死亡。

2.3 随访结果 全部患者均得到随访, 19例患者存活至今, 最长无瘤存活时间63 mo, 生活质量良好。1例单发小肝癌(2 cm)手术切除后复发(出现肝内多发病灶, 总和约7 cm)的患者于术后60 d出现肿瘤肺部转移, 1例单发小肝癌合并终末期肝硬化的患者于术后470 d肝内肿瘤复发, 经过生长抑素和冷循环射频治疗, 带瘤存活至今。该两例术后病理均证实存在肿瘤的血管浸润。

3 讨论

肝移植是否适合治疗原发性肝癌, 历来存在较大争议^[6]。近年来多项研究表明肝癌肝移植后的生存时间与患者的某些临床特征以及病理类型有着密切的关系, 因而又掀起了肝移植治疗肝癌的研究热潮^[7]。目前, 部分肝移植中心制定了肝癌肝移植标准^[8], 我院亦对此进行了初步探讨。

3.1 肝癌肝移植的病例选择 合并肝功能衰竭的小肝癌是肝移植的理想适应证。一般而言, Child-Pugh C级患者禁忌行任何肝叶切除手术^[9]。肝移植为此类患者提供了可能治愈的机会。本组24例患者中, 有9例肿瘤直径<2 cm术后生存均在1年以上。进展期肝癌肝移植是目前最负争议领域^[10]。由于传统的肝癌切除术的5年术后复发率高达70%, 各国学者正在探索肝移植对进展期肝癌的治疗经验, 但至今尚无统一的适应证标准^[11]。国际上普遍认为, 术前有证据表明存在门静脉或肝静脉一、二级分支癌栓是肝移植的禁

■研究前沿

对于肝癌合并肝硬化的患者, 肝移植可能是根本的治疗方法。免疫、辅助化学治疗有助于防止肿瘤复发和使肝移植获得更好的治疗效果, 随着对肿瘤生物学特性了解和不断深入, 将有助于发现哪些患者在术后有更低的复发率, 从而制定更合理的肝癌肝移植适应证标准。

■相关报道

目前我国学者对于肝癌肝移植进行了大量探索, 以期找到符合我国国情的肝癌肝移植标准, UCFS标准可能是比较符合我国国情肝癌肝移植的筛选标准, 并在此基础上将肿瘤数目由 ≤ 3 个扩大到5个, 将微血管癌栓或局限于单侧的静脉小分支癌栓也列入相对适应证。

■ 创新盘点

本研究中我们始终将存在大血管癌栓和远处转移列为手术禁忌证。术前治疗主要为介入治疗,在施行肝癌肝移植初期阶段,我们主要采用TACE治疗,但术后出现肝动脉并发症是最大的威胁。本研究中术前采用冷循环射频固化治疗,取得良好效果,为等待肝移植赢得了时间,初步结果显示射频固化治疗是肝癌肝移植有效的辅助治疗措施。

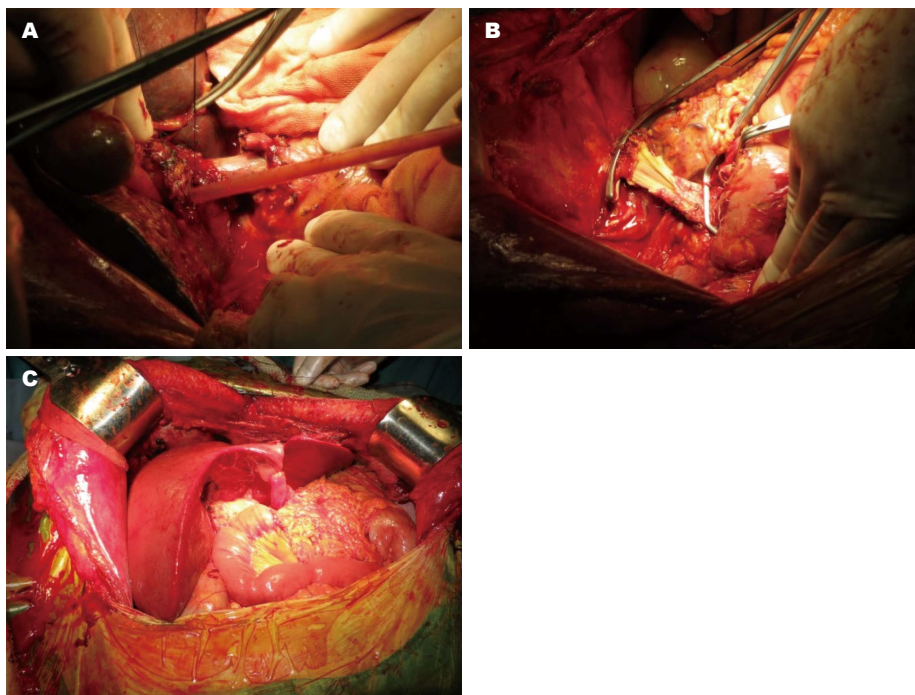


图1 手术图片。A: 门静脉右支切断图; B: 改良背驮式受体肝静脉三角成形图; C: 供肝完成图。

表1 临床与病理资料

复发 情况	灶数目		病灶直径(cm)			血管浸润			甲胎蛋白(ng/mL)	
	单个	多发	<2	2-5	>5	无	镜下	肉眼	<360	>360
无	37	9	13	24	9	32	10	4	29	17
有	1	1	0	1	1	0	0	2	0	2

忌证^[12]。就肿瘤大小和数目而言,米兰标准认为单个病灶直径<5 cm,多个(不超过3个)肿瘤总直径<8 cm的病例即适合行肝移植术^[13]。这一观点并未得到广泛的支持。原发性肝癌的最新TNM分期强调了肿瘤血管浸润的地位,我们针对血管浸润情况对我组24例患者进行回顾分析,结果显微镜下有血管浸润的9例患者,2例术后出现转移和复发。因此我们认为肿瘤的数目以及大小应结合血管浸润进行综合判断,在手术前应尽量取得病理学证据^[14]。Jonas认为复发性肝癌肝移植其疗效也可能十分乐观,但术前必须进行严格的筛选。本组有5例为肝癌术后局部复发患者,术前影像学检查均未见有肝内外转移门静脉浸润;1例患者术后出现肺部转移。肝癌患者AFP水平与移植术后肿瘤复发具有密切关联,AFP明显升高的患者,术后病理多见肿瘤小血管的侵犯,本组17例患者术前血清AFP升高,术后有微血管侵犯9例,其中2例术后复发其中2例术后复发。

3.2 肝癌肝移植围手术期处理 术前处理包括两

方面内容:术前的检查、治疗。肝癌肝移植,术前要充分利用影像学的检查,判断有无转移及肝内血管的侵犯,血管侵犯对于决定是否施行手术具有重要意义^[15]。我们始终将存在大血管癌栓和远处转移列为手术禁忌证。术前治疗主要为介入治疗,在施行肝癌肝移植初期阶段,我们主要采用TACE治疗,但术后出现肝动脉并发症是最大的威胁,本组肝动脉栓塞3例,均为术前反复行TACE的患者。最近我们术前采用冷循环射频固化治疗,取得良好效果。2例患者治疗后AFP降至正常水平,术后病理示肝细胞凝固坏死,未见肿瘤细胞,为等待肝移植赢得了时间。初步结果显示射频固化治疗是肝癌肝移植有效的辅助治疗措施。

3.3 术中处理的注意事项 由于肝癌肝移植的特殊性,术中应足够地重视防止肿瘤细胞播散。我们认为术中贯彻肿瘤根治原则要做好以下5个方面的工作:(1)做好术中探查,如发现有肝外的转移灶,应放弃手术;(2)术中联合射频固化治疗。术中射频能够很好地判断射频固化的范围,病

灶的充分固化,可减少肿瘤细胞播散;(3)手术操作轻柔,避免术中对肝脏明显的挤压和搬动,减少由此引起的肿瘤播散;(4)先行肝十二指肠韧带的解剖,游离入肝动脉、门静脉及胆管。根据肿瘤所在的部位,先行结扎切断门静脉、肝动脉的左支或右分支,这样可以减少术中肿瘤血运转移的机会^[16]。对施行经典式肝移植的患者,可采用先进行静脉转流,后游离肝脏的办法,本组中有1例复发性肝癌,在第一次手术后8年行肝脏移植。由于8年间患者反复进行TACE、放疗、无水乙醇注射等治疗,我们采用了上述先进行静脉转流,后游离肝脏的办法使手术顺利完成,术中患者血液动力学平稳,出血约2000 mL,术后恢复良好;(5)对传统的背驮式肝移植进行有效地改良。以往认为,肝癌肝移植不宜采用背驮式肝移植的术式,这主要由于传统背驮式肝移植在游离肝脏、处理第三肝门和第二肝门时易导致肿瘤残留或转移。我们对传统术式进行改良,采用暂时性阻断受体腔静脉的快速切肝和供受体腔静脉成形技术^[17]。这样能很好解决传统背驮式肝移植的不足。我们的经验表明,改良背驮式肝移植在绝大多数肝癌肝移植中可以取得良好的疗效。

3.4 术后处理 由于术后化疗并不能减少肝癌肝移植术后的肿瘤复发率,本组病例术后均未给予术后化疗。我们认为术前及术中完善的处理较之术后化疗在防治肝癌肝移植术后复发方面具有更重要的意义^[18]。术后常规使用免疫移植剂方案[环孢素A(CsA)+硫唑嘌呤(Aza)+激素],如发生排斥现象,行激素冲击治疗,同时替换CsA为FK506(他克莫司);围手术期中出现药物性肝损害,我们通常减少CsA用量或者及时替换CsA为FK506,一般肝损害均能得到不同程度的改善^[19]。此外,肝癌患者术后激素治疗可能导致疾病复发,对于此类患者我们采用激素术后早期撤除方案^[20]。

总之,通过严格的病例选择,认真的围手术期处理,肝移植能够成为原发性肝癌的有效治疗措施。

4 参考文献

- 1 严律南. 关于肝移植治疗肝癌的受者选择标准与肝癌分期标准的商榷. 中华器官移植杂志 2011; 32: 328-329
- 2 Zimmerman MA, Ghobrial RM, Tong MJ, Hiatt JR, Cameron AM, Hong J, Busuttil RW. Recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation: a review of preoperative and postoperative

prognostic indicators. *Arch Surg* 2008; 143: 182-188; discussion 188 [PMID: 18283144 DOI: 10.1001/archsurg.2007.39143/2/182]

- 3 Chok KS, Chan SC, Cheung TT, Chan AC, Fan ST, Lo CM. Late recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *World J Surg* 2011; 35: 2058-2062 [PMID: 21597889 DOI: 10.1007/s00268-011-1146-z]
- 4 Mergental H, Porte RJ. Liver transplantation for unresectable hepatocellular carcinoma in patients without liver cirrhosis. *Transpl Int* 2010; 23: 662-667 [PMID: 20345561 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2010.01076.xTR11076]
- 5 Crippin JS. Treatment of hepatocellular carcinoma after transplantation and human rights. *Hepatology* 2007; 45: 263-265 [PMID: 17256762 DOI: 10.1002/hep.21545]
- 6 Merli M, Giusto M, Gentili F, Novelli G, Ferretti G, Riggio O, Corradini SG, Siciliano M, Farcomeni A, Attili AF, Berloco P, Rossi M. Nutritional status: its influence on the outcome of patients undergoing liver transplantation. *Liver Int* 2010; 30: 208-214 [PMID: 19840246 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02135.xLIV2135]
- 7 Bates MJ, Farkas E, Taylor D, McFadden PM. Pulmonary resection of metastatic hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Ann Thorac Surg* 2008; 85: 412-415 [PMID: 18222234 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2007.10.065S0003-4975(07)02195-9]
- 8 Di Sandro S, Giacomoni A, Slim A, Lauterio A, Mangoni I, Mihaylov P, Pirodda V, Aseni P, De Carlis L. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: the impact of neo-adjuvant treatments on the long term results. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 505-510 [PMID: 22353516 DOI: 10.5754/hge11225]
- 9 Herrero JL, Sangro B, Pardo F, Quiroga J, Iñarrairaegui M, Rotellar F, Montiel C, Alegre F, Prieto J. Liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma across Milan criteria. *Liver Transpl* 2008; 14: 272-278 [PMID: 18306328 DOI: 10.1002/lt.21368]
- 10 陈杰, 李相成. 早期肝癌的手术治疗: 肝切除与肝移植比较. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 794-797
- 11 Chen CL, Concejro AM, Wang CC, Wang SH, Liu YW, Yang CH, Yong CC, Lin TS. Inferior vena cava replacement in living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2009; 15: 1637-1640 [PMID: 19877261 DOI: 10.1002/lt.21897]
- 12 Ravaioli M, Zanello M, Grazi GL, Ercolani G, Cescon M, Del Gaudio M, Cucchetti A, Pinna AD. Portal vein thrombosis and liver transplantation: evolution during 10 years of experience at the University of Bologna. *Ann Surg* 2011; 253: 378-384 [PMID: 21183851 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318206818b]
- 13 Fan HL, Chen TW, Hsieh CB, Jan HC, His SC, De-Chuan C, Chu CH, Yu JC. Liver transplantation is an alternative treatment of hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria. *Am J Surg* 2010; 200: 252-257 [PMID: 20122677 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2009.07.049S0002-9610(09)00790-9]
- 14 Taketomi A, Fukuhara T, Morita K, Kayashima H, Ninomiya M, Yamashita Y, Ikegami T, Uchiyama H, Yoshizumi T, Soejima Y, Shirabe K, Maehara Y. Improved results of a surgical resection for the recurrence of hepatocellular carcinoma after living donor liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2010; 17:

■应用要点

(1)做好术中探查,如发现有肝外的转移灶,应放弃手术;(2)术中联合射频固化治疗。术中射频能够很好地判断射频固化的范围,病灶的充分固化,可减少肿瘤细胞播散;(3)手术操作轻柔,避免术中对肝脏明显的挤压和搬动,减少由此引起的肿瘤播散;(4)先行肝十二指肠韧带的解剖,游离入肝动脉、门静脉及胆管。根据肿瘤所在的部位,先行结扎切断门静脉、肝动脉的左支或右分支,这样可以减少术中肿瘤血运转移的机会。

■同行评价

本文病例资料来源可靠,数量充足,资料选取有一定的标准,资料的构成比等相对合理,符合统计学要求,具有科学性,对临床治疗具有一定指导意义。

- 2283-2289 [PMID: 20204531 DOI: 10.1245/s10434-010-0999-y]
- 15 Castillo E, Pelletier S, Kumer S, Abouljoud M, Divine G, Moonka D. Incidental hepatocellular carcinoma after liver transplantation: population characteristics and outcomes. *Transplant Proc* 2009; 41: 219-221 [PMID: 19249518 DOI: 10.1016/j.transproceed.2008.10.053S0041-1345(08)01556-X]
- 16 Sun H, Teng M, Liu J, Jin D, Wu J, Yan D, Fan J, Qin X, Tang H, Peng Z. FOXM1 expression predicts the prognosis in hepatocellular carcinoma patients after orthotopic liver transplantation combined with the Milan criteria. *Cancer Lett* 2011; 306: 214-222 [PMID: 21482449 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.03.009S0304-3835(11)00158-3]
- 17 Compagnon P, Grandadam S, Lorho R, Turlin B, Camus C, Jianrong Y, Lainé F, Meunier B, Deugnier Y, Boudjema K. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma without preoperative tumor biopsy. *Transplantation* 2008; 86: 1068-1076 [PMID: 18946344 DOI: 10.1097/TP.0b013e318187754c00007890-200810270-00009]
- 18 梁廷波, 耿磊. 对肝癌肝移植现状和复发防治的思考. *中华医学杂志* 2011; 91: 1516-1518
- 19 Decaens T, Roudot-Thoraval F, Badran H, Wolf P, Durand F, Adam R, Boillot O, Vanlemmens C, Gugenheim J, Dharancy S, Bernard PH, Boudjema K, Calmus Y, Hardwigsen J, Ducerf C, Pageaux GP, Hilleret MN, Chazouillères O, Cherqui D, Mallat A, Duvoux C. Impact of tumour differentiation to select patients before liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2011; 31: 792-801 [PMID: 21645209 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02425.x]
- 20 Yu CY, Ou HY, Huang TL, Chen TY, Tsang LL, Chen CL, Cheng YF. Hepatocellular carcinoma downstaging in liver transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44: 412-414 [PMID: 22410030 DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.01.043S0041-1345(12)00077-2]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部)

新型NSAIDs药物对ERCP术后胰腺炎发生的影响

王安, 蔡旺, 秦鸣放, 李宁

王安, 天津医科大学研究生院 天津市 300100
蔡旺, 秦鸣放, 李宁, 天津市南开医院微创外科 天津市 300100
王安, 在读研究生, 主要从事肝胆外科疾病腹腔镜、内镜的治疗。
天津市卫生局科技基金资助项目, No. 2013KZ054
作者贡献分布: 本文课题设计由蔡旺与王安完成; 内镜操作由秦鸣放与李宁完成; 资料总结、数据分析及论文撰写由王安完成; 秦鸣放负责全文理论指导。
通讯作者: 蔡旺, 博士, 副主任医师, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院微创外科。caiwangmd@163.com
电话: 022-27435267
收稿日期: 2013-08-19 修回日期: 2013-10-23
接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-08

Effects of new-type NSAIDs in preventing post-ERCP pancreatitis

An Wang, Wang Cai, Ming-Fang Qin, Ning Li

An Wang, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China
Wang Cai, Ming-Fang Qin, Ning Li, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Public Health Bureau of Tianjin, No. 2013KZ054
Correspondence to: Wang Cai, Associate Chief Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 122 Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. caiwangmd@163.com
Received: 2013-08-19 Revised: 2013-10-23
Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To compare the effects of new-type versus traditional non-steroid antiinflammatory drugs (NSAIDs) in the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) pancreatitis (PEP).

METHODS: One hundred and ninety-seven patients who underwent ERCP for choledocholithiasis between May 2012 and May 2013 were randomly divided into three groups: a lornoxicam group, a parecoxib group and a control group. Different drugs were applied for each group. Mean visual analogue score (VAS) and serum levels of amylase and C-reactive protein (CRP) were measured before ERCP and 4, 24 and 48 h after ERCP. Incidences of hyperamylasemia and PEP were observed.

RESULTS: The incidences of PEP in the lornoxicam group, parecoxib group and control group were 4.55%, 9.09% and 10.8%, respectively, and the difference was statistically significant between the parecoxib group and control group ($P < 0.05$), but not between the lornoxicam group and control group ($P > 0.05$). The incidences of post-ERCP hyperamylasemia in the parecoxib group and lornoxicam group were significantly lower than that in the control group (9.09%, 15.2% vs 21.5%, both $P < 0.01$). Serum CRP level at 4 h after ERCP was significantly lower in both treatment groups than in the control group (both $P < 0.01$). Mean VAS at 4 h after ERCP was significantly lower in both treatment groups than in the control group (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: NSAIDs like lornoxicam and parecoxib can prevent the occurrence of hyperamylasemia induced by ERCP. Parecoxib could prevent the occurrence of PEP. Both drugs can alleviate pain and inflammatory reactions after the endoscopic procedure. As a new type of NSAIDs, selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors might be more useful in preventing PEP.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Pancreatitis; Hyperamylasemia; Non-steroid anti-inflammatory drugs

Wang A, Cai W, Qin MF, Li N. Effects of new-type NSAIDs in preventing post-ERCP pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3881-3886 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3881>

摘要

目的: 观察新型和传统非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)药物对预防经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎发生、减轻术后高胰酶血症、缓解术后疼痛的作用。

■背景资料

非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)预防内镜后胰腺炎的作用引起国内外内镜医师的关注。但是目前的研究多应用传统的NSAIDs, 如吲哚美辛栓剂、双氯芬酸等, 尚无应用新型NSAIDs预防内镜后胰腺炎的报道, 本文报道围绕新型NSAIDs对内镜后胰腺炎发生的影响。

■同行评议者

孙诚谊, 教授, 贵阳医学院附属医院

■ 研发前沿

NSAIDs预防内镜后胰腺炎的作用机制以及分子生物学依据是该领域的研究热点,亟待解决的问题是应用NSAIDs预防内镜后胰腺炎的适应症及禁忌证。

方法: 入选2012-05/2013-05于我院行十二指肠镜治疗的胆总管结石患者197例,随机分为氯诺昔康组、帕瑞昔布组和对照组。内镜治疗前后采用新型NSAIDs帕瑞昔布钠及传统NSAIDs氯诺昔康静脉注射。所有患者术前、术后4、24、48 h监测血清淀粉酶、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP),并同时记录视觉模拟评分法(visual analogue score, VAS)疼痛评分。

结果: 帕瑞昔布组、氯诺昔康组和对照组PEP发生率分别为4.55%、9.09%、10.8%,两种NSAIDs药物组内镜后胰腺炎(post ERCP pancreatitis, PEP)发生率均比对照组低,其中帕瑞昔布组与对照组的差异有统计学意义($P < 0.05$)。帕瑞昔布组高胰酶血症发生率(9.09%)与对照组(21.5%)相比有显著统计学差异($P < 0.01$),氯诺昔康组高胰酶血症发生率(15.2%)与对照组(21.5%)相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后4 h帕瑞昔布组和氯诺昔康组的血清CRP水平($23.41 \text{ mg/L} \pm 14.07 \text{ mg/L}$ 、 $36.35 \text{ mg/L} \pm 15.75 \text{ mg/L}$),均比同时相对照组($58.35 \text{ mg/L} \pm 19.07 \text{ mg/L}$)低,且差异有显著统计学差异($P < 0.01$),术后24 h两组的血清CRP水平($13.63 \text{ mg/L} \pm 11.73 \text{ mg/L}$ 、 $21.39 \text{ mg/L} \pm 13.38 \text{ mg/L}$),均比同时相对照组($48.10 \text{ mg/L} \pm 18.42 \text{ mg/L}$)低,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后4 h的VAS疼痛评分帕瑞昔布组(2.73 ± 1.34)、氯诺昔康组(3.28 ± 1.27)均比对照组(6.45 ± 1.89)低,且差异有显著统计学意义($P < 0.01$)。

结论: 帕瑞昔布和氯诺昔康可减少内镜后高胰酶血症的发生,其中帕瑞昔布可能预防内镜后胰腺炎发生。两种方法都可以减轻内镜术后的疼痛和炎症反应。提示新型NSAIDs药物即选择性环氧合酶-2抑制剂在预防内镜后胰腺炎方面有一定应用前景。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内窥镜逆行性胰胆管造影术; 胰腺炎; 高胰酶血症; 非甾体类抗炎药物

核心提示: 帕瑞昔布和氯诺昔康可减少内镜后高胰酶血症的发生,其中帕瑞昔布可能预防内镜后胰腺炎发生。两种方法都可以减轻内镜术后的疼痛和炎症反应。提示新型非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs)药物即选择性环氧合酶-2(cyclooxygenase 2)抑制剂在预防内镜后胰腺炎方面有一定应用前景。

王安, 蔡旺, 秦鸣放, 李宁. 新型NSAIDs药物对ERCP术后胰腺

炎发生的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3881-3886
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3881.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3881>

0 引言

内镜下逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是临床广泛应用的胆胰疾病的重要诊断及微创治疗手段。ERCP的常见并发症主要包括急性胰腺炎、出血及穿孔等。内镜后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)是ERCP术后最常见的并发症,文献报道发生率为1%-40%^[1,2]。有少数PEP患者可发展为重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),甚至危及生命。近年来,非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)类药物预防内镜后胰腺炎的作用引起国内外内镜医师的关注。但是目前的研究多应用传统的NSAIDs,如吲哚美辛栓剂、双氯芬酸等,尚无应用新型NSAIDs预防内镜后胰腺炎的报道,我中心围绕新型NSAIDs类药物对内镜后胰腺炎发生的影响进行了一系列随机对照临床研究。报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 我们选取2012-05/2013-05因胆总管结石在我院住院行ERCP检查及治疗的患者197例纳入研究,其中男99例,女98例,年龄31-60岁,平均年龄52.74岁。纳入标准为自愿同意参加试验,并签订知情同意书,本临床试验通过天津市南开医院伦理委员会的批准。经B超、CT或核磁共振证实胆管结石。在天津市南开医院内镜中心行ERCP的患者。排除标准: NSAIDs应用禁忌证(包括消化性溃疡患者、肝肾功能不全、凝血机制不全);曾行内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST); ERCP术前2 wk发生过急性胰腺炎;慢性胰腺炎患者;术前血清淀粉酶异常或影像学检查提示胰腺异常;以及因其他疾病于2 wk内服用NSAIDs类药物者。

1.2 方法

1.2.1 分组: 本临床研究分为帕瑞昔布组($n = 66$)、氯诺昔康组($n = 66$)和对照组($n = 65$)3组。采用计算机软件随机分配的方法,将计算机随机生成的197个随机序列号码分别放入顺序编号1-197并且密封、不透光的信封中,再用计算机将上述随机号码随机分为3组,分别对应上述各组。

将入选患者按照入选先后顺序编号1-197

号. 当入选患者进入内镜中心等待接受ERCP治疗时, 由护士打开相应入选编号的信封, 根据信封中的随机序列号码的组别将受试对象分配进相应的实验组, 在治疗的过程中根据分组给予相应的治疗措施.

1.2.2 治疗: (1)帕瑞昔布组: 采用帕瑞昔布(40 mg/瓶, 辉瑞制药有限公司)静脉注射给药, 在ERCP开始前予帕瑞昔布钠40 mg静脉注射. 常规行ERCP、EST后取石, 取石完成后放置经内镜鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)3 d, 术后6 h再次给予帕瑞昔布钠40 mg静脉注射; (2)氯诺昔康组: 采用氯诺昔康(8 mg/支, Nycomed Austria GmbH)静脉注射给药, 在ERCP开始前予氯诺昔康8 mg静脉注射. 常规行ERCP、EST后取石, 取石完成后放置ENBD 3 d, 术后6 h再次给予氯诺昔康8 mg静脉注射; 所有患者均行相同术前准备. 术前空腹8-12 h, ERCP术前30 min肌注山莨菪碱10 mg、地西洋10 mg、哌替啶50 mg. 治疗均采用日本Fujinon EPX-2200电子十二指肠镜, ERBE ICC80高频电刀, 美国BOSTON公司生产的斑马导丝和造影管, 造影剂选用0.9%氯化钠溶液稀释的50%泛影葡胺注射液(湖南汉森制药有限公司), 乳头切开刀为聪明刀及针状切开刀, 普通取石网篮、机械碎石网篮、取石气囊及9 Fr×1.7 m鼻胆管. 两组术后均禁食水24 h, 常规静脉补液、补充电解质及能量、保护胃肠黏膜治疗. 内镜治疗由相同操作者、护士配合完成, 术后均常规放置ENBD 3 d, 围治疗期不采用其他针对内镜后胰腺炎的预防性药物(如生长抑素及其类似物、胰酶抑制剂、硝酸甘油)或其他预防内镜后胰腺炎的措施.

1.2.3 观察指标: 所有患者术前、术后4、24、48 h取血检测血清淀粉酶及C反应蛋白(C-reactive protein, CRP), 同时观察ERCP术后腹痛、呕吐、发热等症状及腹部体征, 记录视觉模拟评分法(visual analogue score, VAS)疼痛评分. VAS是一种简单实用的疼痛评价量表, 能够准确地表达患者的感觉. 在临床以疼痛为结局指标的研究中VAS法被认作是测量疼痛最敏感和可靠的方法. 按照1991年由Cotton等制定的关于ERCP术后并发症的共识: ERCP术后淀粉酶高于正常上限(100 U/L)即定义为高淀粉酶血症^[2]. 当术后患者出现胰腺相关腹痛, 持续24 h以上, 同时伴有血清淀粉酶超过正常值上限3倍以上(300 U/L)时, 即可诊断ERCP后胰腺炎^[3]. 若出现PEP

表 1 3组患者性别及年龄情况

分组	n	男/女	年龄(岁)
帕瑞昔布组	66	36/30	52.34 ± 10.16
氯诺昔康组	66	32/34	54.30 ± 15.27
对照组	65	31/34	51.55 ± 13.74

或者高胰酶血症, 则立即给予治疗措施, 并且记录患者血清淀粉酶和症状变化.

统计学处理 对所得数据用SPSS18.0统计软件分析, 血清淀粉酶、血清CRP及VAS评分值以mean±SD表示, 用单因素方差检验比较组间差别; 两组间胰腺炎和高胰酶血症发生率比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者一般情况 3组患者性别及年龄无统计学差异($P>0.05$). 所有入选患者均成功完成ERCP及内镜治疗(表1).

2.2 血清淀粉酶、CRP术前、术后检测 术后4 h血清淀粉酶水平帕瑞昔布组和氯诺昔康组(60.63 mg/L±21.92 mg/L、35.54 mg/L±10.45 mg/L), 与对照组(80.63 mg/L±20.66 mg/L)相比较, 且差异有统计学意义($P<0.05$), 同时相的血清CRP水平(23.41 mg/L±14.07 mg/L、36.35 mg/L±15.75 mg/L), 均比同时相对对照组(58.35 mg/L±19.07 mg/L)低, 且差异有显著统计学意义($P<0.01$), 术后24 h帕瑞昔布组血清淀粉酶水平与同时项对照组相比较, 差异有显著统计学意义(69.43 U/L±20.11 U/L vs 105.55 U/L±28.07 U/L, $P<0.01$), 氯诺昔康组血清淀粉酶水平比对照组低, 且差异有统计学意义(87.65 U/L±23.37 U/L vs 105.55 U/L±28.07 U/L, $P<0.05$), 同时相两组血清CRP水平(13.63 mg/L±11.73 mg/L、21.39 mg/L±13.38 mg/L), 均比同时相对对照组(48.10 mg/L±18.42 mg/L)低, 且差异有统计学意义($P<0.05$). 术后48 h两组血清淀粉酶水平(40.35 U/L±20.23 U/L、45.82 U/L±19.74 U/L), 均比同时相对对照组(51.98 U/L±27.67 U/L)低, 且差异有统计学意义($P<0.05$), 同时相两组的血清CRP水平与对照组相比较, 但差异无统计学意义(表2, 3).

2.3 术前、术后VAS评分 术后4 h的VAS疼痛评分帕瑞昔布组(2.73±1.34)、氯诺昔康组(3.28±1.27)均比对照组(6.45±1.89)低, 且差异有显著

■ 相关报道

2012年Crippa等报道了直肠应用NSAIDs能够降低高风险患者的PEP发生率, 提示了NSAIDs在预防PEP方面应用的巨大潜力. 姜丹等通过对11篇国内外文献进行荟萃分析发现吡罗昔酮可以有效降低ERCP术后胰腺炎及术后高淀粉酶血症的发生率.

■创新盘点

目前国内外尚无应用新型NSAIDs即选择性COX-2抑制剂预防内镜后胰腺炎的报道。本文报道新型NSAIDs帕瑞昔布钠对内镜后胰腺炎发生的影响。

表 2 血清淀粉酶术前、术后检测(U/L, mean \pm SD)

分组	n	术前	术后(h)		
			4	24	48
帕瑞昔布组	66	36.34 \pm 11.56	60.63 \pm 21.92 ^a	69.43 \pm 20.11 ^b	40.35 \pm 20.23 ^a
氯诺昔康组	66	35.54 \pm 10.45	69.18 \pm 18.45 ^a	87.65 \pm 23.37 ^a	45.82 \pm 19.74 ^a
对照组	65	33.16 \pm 10.23	80.63 \pm 20.66	105.55 \pm 28.07	51.98 \pm 27.67

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

表 3 血清C反应蛋白术前、术后检测(mg/L, mean \pm SD)

分组	n	术前	术后(h)		
			4	24	48
帕瑞昔布组	66	10.29 \pm 10.33	23.41 \pm 14.07 ^b	13.63 \pm 11.73 ^a	23.67 \pm 14.66
氯诺昔康组	66	9.56 \pm 11.63	36.35 \pm 15.75 ^b	21.39 \pm 13.38 ^a	24.53 \pm 16.52
对照组	65	10.98 \pm 10.96	58.35 \pm 19.07	48.10 \pm 18.42	29.24 \pm 18.47

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

表 4 术前、术后VAS评分(mean \pm SD)

分组	n	术前	术后(h)		
			4	24	48
帕瑞昔布组	66	0.60 \pm 1.13	2.73 \pm 1.34 ^b	2.39 \pm 0.97	2.48 \pm 0.74
氯诺昔康组	66	0.53 \pm 1.21	3.28 \pm 1.27 ^b	2.56 \pm 0.64	2.54 \pm 1.04
对照组	65	0.69 \pm 1.25	6.45 \pm 1.89	3.12 \pm 1.62	2.52 \pm 1.10

^b $P < 0.01$ vs 对照组. VAS: 视觉模拟评分法.

表 5 内镜术后48 h内高胰酶血症及PEP发生情况 n(%)

分组	n	高胰酶血症	PEP
帕瑞昔布组	66	6(9.09) ^b	3(4.55) ^a
氯诺昔康组	66	10(15.2) ^a	6(9.09)
对照组	65	14(21.5)	7(10.8)

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组. PEP: 内镜后胰腺炎.

统计学意义($P < 0.01$)(表4).

2.4 PEP及术后高胰酶血症发生率 氯诺昔康组、帕瑞昔布组、对照组PEP发生率分别为4.55%、9.09%、10.8%, 帕瑞昔布组和对照组的PEP发生率相比均有统计学差异($P < 0.05$), 氯诺昔康组PEP发生率比对照组低, 但没有统计学差异($P > 0.05$)(表5). 30例发生高胰酶血症的患者, 均给予禁食、水, 胃肠减压, 常规抗炎补液、抑酸抑酶治疗, 并在上述治疗基础上行中西医结合治疗(清胰汤或清胰腺胸汤200 mL胃注, 400 mL

灌肠)等治疗, 患者于术后3-4 d内血、尿淀粉酶均恢复正常. 9例PEP患者中, 7例患者, 血、尿淀粉酶于3-4 d恢复正常, 临床症状基本消失, 行CT复查均提示胰腺形态略饱满, 胰腺周围无明显渗出. 2例患者7-8 d血、尿淀粉酶恢复正常, CT复查提示胰周少量渗出液, 胰体或胰尾部轻度水肿. 所有入选患者最终均治愈出院, 无出血、消化道穿孔等其他严重并发症.

3 讨论

ERCP是广泛用于肝胆胰疾病的重要诊治手段, 但是ERCP术后各种并发症困扰着医生和患者, 如穿孔、出血、胰腺炎等, 其中高胰酶血症和PEP就是最常见且难以避免的重要并发症^[4,5]. 虽然大多数PEP患者表现的都是轻型的胰腺炎, 但有少数患者会表现为重型胰腺炎, 甚至危及生命.

综合相关文献分析, PEP的发生可能与机械因素、化学因素、感染性因素、细胞因子等诸

多因素有关^[6]。内镜后胰腺炎在一些危险因素存在的情况下有时很难避免。如何针对PEP的诱因进行有效的预防一直是所有内镜医师探讨和研究热点。

目前针对PEP发生诱因的主要假说为: (1) “胰管梗阻假说”, 即由于ERCP操作导致Oddi括约肌痉挛和乳头水肿, 使壶腹部梗阻, 胆汁和胰液引流受阻, 胰管内压升高诱发PEP^[5]; (2) “损伤后胰酶激活假说”, 即胰管显影和胰管反复插管导致胰管壁和腺泡上皮受损, 其细胞膜或细胞与细胞之间紧密连接被破坏, 胰管内胰液返流至胰腺实质, 从而胰酶被激活, 破坏胰腺组织; 也可能为胰管内高压, 使胰酶分泌受阻, 酶原颗粒在腺泡细胞内聚集, 其与溶酶体融合, 胰酶酶原被提前激活, 诱发PEP^[6]。能否针对上述诱因找到对应的措施预防PEP的发生具有重要意义。

预防胰管梗阻主要通过充分的术前准备^[7], 规范内镜操作, 严格掌握内镜下电切的指征, 减少插管次数, 缩短操作时间, 控制造影剂压力、放置预防性胰管支架^[8]等方法解决。

针对内镜后胰腺炎的“损伤后胰酶激活假说”, 最新研究提示预防和阻断胰腺炎初期的级联炎症反应可预防急性胰腺炎发生, 对于已经发生的急性胰腺炎, 可以降低胰腺炎的严重程度, 改善预后情况。基础研究认为^[9]磷脂酶A2通过调节一系列炎症前介质的释放从而在诱发急性胰腺炎的炎症性瀑布效应中起着重要的作用, 预防和阻断这种瀑布效应可以防止胰腺炎的发生和发展。研究发现NSAIDs能有效抑制胰腺炎患者磷脂酶A2的活性及中性粒细胞、内皮细胞的附着, 达到减少中性粒细胞在损伤胰腺组织积聚的目的, 在抑制初期炎症级联反应中起到重要作用^[10]。另有研究显示NSAIDs可抑制胰腺炎发生过程中环磷酸腺苷的合成、过氧化物阴离子的产生、溶酶体酶的释放等伴随中性粒细胞活化的一系列现象, 从而起到降低炎症反应的作用^[11]。这些研究表明NSAIDs在防治PEP方面可能起到积极的作用。

NSAIDs是一类具有COX抑制活性药物的总称, 因具有抗炎、镇痛、退热作用而广泛应用于临床。选择性COX-2抑制剂是一种新型的NSAID, 通过抑制COX-2阻止炎症前列腺素类物质的产生, 同时对COX-1途径的生理性前列腺素的正常生理功能没有影响。自90年代上市以来, 已经有尼美舒利、美洛昔康、塞来昔布、

罗非昔布和帕瑞昔布等多种选择性COX-2抑制剂被临床广泛应用。现有的COX-2抑制剂对COX-2的抑制强度为COX-1抑制强度的100-800倍以上。这类药物用于抗炎治疗时, 很少发生胃肠道、肾脏、血小板和肺部的不良反应^[12]。能在抑制体内炎症前列腺素合成的同时, 抑制某些细胞黏附分子的阳性表达, 在炎症反应初期阻断炎症因子瀑布效应^[13]。动物实验表明, COX-2在大鼠胰腺炎的发生和发展中具有重要的作用, 选择性阻断COX-2降低了急性胰腺炎大鼠初期炎症反应和后期NF- κ B的激活, 有效抑制了胰腺组织的炎症和坏死的发生^[13]。以上结果提示我们NSAIDs在急性胰腺炎的预防与发病初期的治疗中有较大的应用前景。2012年Elmunzer等^[14]报道了直肠应用NSAIDs能够降低高风险患者的PEP发生率, 提示了NSAIDs在预防PEP方面应用的巨大潜力。姜丹等^[15]通过对11篇国内外文献进行荟萃分析发现吗啉美辛可以有效降低ERCP术后胰腺炎及术后高淀粉酶血症的发生率。

本研究对新型NSAIDs药物预防PEP和内镜后高胰酶血症的效果进行了随机对照观察, 通过对患者内镜术后血清淀粉酶、CRP和VAS评分的记录和统计学计算, 我们发现对于胆总管结石行内镜治疗的患者, 新型NSAIDs帕瑞昔布可能能够预防内镜后胰腺炎的发生, 帕瑞昔布和氯诺昔康均可避免内镜术后高胰酶血症的发生。NSAIDs对内镜术后炎症的抑制作用较明显, 并且可以显著减少术后疼痛感。提示帕瑞昔布等新型的NSAIDs可以用来预防内镜后胰腺炎, 减轻内镜后炎症和不适。但是本研究仅选择因胆总管结石行内镜治疗的患者, 尚缺乏多病种、多中心、大样本的临床试验进一步验证和支持。

4 参考文献

- 1 DiMaggio MJ, Spaete JP, Ballard DD, Wamsteker EJ, Saini SD. Risk models for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis (PEP): smoking and chronic liver disease are predictors of protection against PEP. *Pancreas* 2013; 42: 996-1003 [PMID: 23532001 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31827e95e9]
- 2 Kubiliun NM, Elmunzer BJ. Preventing pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2013; 23: 769-786 [PMID: 24079789 DOI: 10.1016/j.giec.2013.06.003]
- 3 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]

■应用要点

通过本实验, 我们发现静脉注射帕瑞昔布钠等新型的NSAIDs或可以用来预防内镜后胰腺炎, 减轻内镜后炎症和不适。而传统NSAIDs也能够降低内镜后高胰酶血症的发生, 减轻内镜后炎症。

■名词解释

内镜后胰腺炎(ERCP后胰腺炎, PEP): 在内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)后出现持续性的胰腺炎相关性疼痛并持续至术后24 h以上, 且血清淀粉酶超过正常上限的3倍, 并根据患者需住院天数及有无全身并发症确定其病变的严重程度, 无并发症及住院少于3 d者为轻度, 住院在3-10 d者为中度, 有局部或全身并发症及需住院10 d以上者为重度。

■同行评价

本文对新型NSAIDs药物预防ERCP后胰腺炎进行了前瞻性随机对照研究,有一定的学术价值。

- 4 韩兵, 王宝仁. ERCP术后急性胰腺炎并发症的危险因素及预防研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1813-1818
- 5 Döbrönte Z, Toldy E, Márk L, Sarang K, Lakner L. [Effects of rectal indomethacin in the prevention of post-ERCP acute pancreatitis]. *Orv Hetil* 2012; 153: 990-996 [PMID: 22714033 DOI: 10.1556/OH.2012.29403]
- 6 袁伟燕, 陆翠华. 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1075-1079
- 7 丁国乾, 秦鸣放, 邹富胜, 赵宏志. 口服硫酸镁对ERCP术后胰腺炎发生和血淀粉酶水平的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1570-1573
- 8 秦鸣放, 丁国乾. 胰管支架在困难内镜下逆行胰胆管造影术中的临床应用. 中国内镜杂志 2011; 3: 280-282 285
- 9 Kahl S, Mayer J, Schuette K, Peuravuori H, Pross M, Schulz HU, Nevalainen TJ, Malfertheiner P. Effect of procainhydrochloride on phospholipase A2 catalytic activity in sodium taurocholate-induced acute experimental pancreatitis in rats. *Dig Dis* 2010; 28: 373-378 [PMID: 20814215 DOI: 10.1159/000319417]
- 10 Szymanski PT, Muley P, Ahmed SA, Khalifa S, Fahmy H. Sarcophine-diol inhibits expression of COX-2, inhibits activity of cPLA2, enhances degradation of PLA2 and PLC(γ)1 and inhibits cell membrane permeability in mouse melanoma B16F10 cells. *Mar Drugs* 2012; 10: 2166-2180 [PMID: 23170076 DOI: 10.3390/md10102166]
- 11 Vázquez-Meza H, de Piña MZ, Pardo JP, Riveros-Rosas H, Villalobos-Molina R, Piña E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs activate NADPH oxidase in adipocytes and raise the H₂O₂ pool to prevent cAMP-stimulated protein kinase a activation and inhibit lipolysis. *BMC Biochem* 2013; 14: 13 [PMID: 23718778 DOI: 10.1186/1471-2091-14-13]
- 12 Muciño-Ortega E, Galindo-Suárez RM, Díaz-Ponce H, Walter-Tordecillas MA. [Economic analysis of parecoxib in the management of postsurgical pain in gynecology]. *Ginecol Obstet Mex* 2012; 80: 685-693 [PMID: 23427637]
- 13 Slogoff MI, Ethridge RT, Rajaraman S, Evers BM. COX-2 inhibition results in alterations in nuclear factor (NF)-kappaB activation but not cytokine production in acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 511-519 [PMID: 15120378]
- 14 Elmunzer BJ, Scheiman JM, Lehman GA, Chak A, Mosler P, Higgins PD, Hayward RA, Romagnuolo J, Elta GH, Sherman S, Waljee AK, Repaka A, Atkinson MR, Cote GA, Kwon RS, McHenry L, Piraka CR, Wamsteker EJ, Watkins JL, Korsnes SJ, Schmidt SE, Turner SM, Nicholson S, Fogel EL. A randomized trial of rectal indomethacin to prevent post-ERCP pancreatitis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1414-1422 [PMID: 22494121 DOI: 10.1056/NEJMoa1111103]
- 15 姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦春回. 吗啡美辛预防ERCP术后胰腺炎的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 14: 1343-1350

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫治疗壶腹周围癌疗效的系统评价

陈舒婷, 邱建国, 员海超, 蒋辉, 吴泓

陈舒婷, 邱建国, 蒋辉, 吴泓, 四川大学华西医院肝胆胰外科
四川省成都市 610041

员海超, 四川大学华西医院泌尿外科 四川省成都市 610041
陈舒婷, 主要从事肝胆胰疾病的护理与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由吴泓设计及论文写作中给予指导; 研究过程由陈舒婷、邱建国、员海超及蒋辉操作完成; 数据分析由陈舒婷、邱建国、员海超及蒋辉完成; 本文写作由陈舒婷完成。

通讯作者: 吴泓, 教授, 610041, 四川省成都市人民南路三段37号, 四川大学华西医院肝胆胰外科。wuhongjoy@163.com

电话: 028-85422474 传真: 028-85422474

收稿日期: 2013-03-02 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-08

Standard vs extended lymphadenectomy associated with pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma: A meta-analysis

Shu-Ting Chen, Jian-Guo Qiu, Hai-Chao Yuan,
Hui Jiang, Hong Wu

Shu-Ting Chen, Jian-Guo Qiu, Hui Jiang, Hong Wu, Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Hai-Chao Yuan, Department of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Hong Wu, Professor, Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, West China Hospital, Sichuan University, 37 Renmin South Road, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. wuhongjoy@163.com

Received: 2013-03-02 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To review and evaluate the therapeutic efficacy of extended lymph node dissection (ELND) associated with pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma compared to conventional standard lymph node dissection (SLND).

METHODS: The Cochrane Library and Controlled Trials Registry (1991-2010), Medline Ovid (1956-2010), PubMed (1977-2010), Science Direct

(1956-2010), and Web of Knowledge (1956-2010) were electronically searched for randomized clinical trials (RCTs) that compared the therapeutic endpoints of SLND vs ELND associated with pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma patients, with English language as a limit. Meta-analysis was performed using RevMan 5.0.22 software.

RESULTS: Five RCTs involving 673 patients were included for pooled analysis. Meta-analysis showed that ELND were associated with longer operative time and higher number of dissected lymph nodes than SLND. The postoperative morbidity and mortality were similar when the two groups were compared except a significant lower frequency of delayed gastric emptying in the SLND group. There was no significant difference between two groups regarding long-term survival.

CONCLUSION: ELND appears not to improve the long-term survival of patients with periampullary cancer although a significant higher number of lymph nodes dissected were observed in the ELND group.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Periampullary adenocarcinoma; Pancreaticoduodenectomy; Lymphadenectomy; Systematic review

Chen ST, Qiu JG, Yuan HC, Jiang H, Wu H. Standard vs extended lymphadenectomy associated with pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3887-3893 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3887.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3887>

摘要

目的: 系统评价胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫治疗壶腹周围癌的疗效及安全性。

方法: 计算机检索Cochrane Library and

■背景资料

淋巴结转移是影响胰头癌等壶腹周围癌手术效果的重要原因之一。但长期以来, 是否对行胰十二指肠切除术患者实施彻底的淋巴结清扫存在较大的争论。欧美较多学者认为扩大淋巴结清扫无益于提高生存率, 而以日本、韩国学者为代表的另一些学者的研究资料却表明了淋巴结廓清可大大提高术后长期生存率。

■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

■ 研发前沿

Michalski等对胰头癌行胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫系统评价表明:扩大淋巴结清扫范围对患者长期生存无益,其短期效果与标准淋巴结廓清组相当。

Controlled Trials Registry(1991-2010)、Medline Ovid(1956-2010)、PubMed(1977-2010)、Science Direct(1956-2010)、Web of Knowledge(1956-2010)等外文期刊,收集胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫与标准淋巴结清扫治疗壶腹周围癌的随机对照试验。数据提取和文献质量评价由两名评价员独立进行。采用Cochrane协作网专用软件RevMan 5.0.22对数据进行统计分析。

结果:共纳入5个临床随机双盲对照试验,合计673例患者。Meta分析结果显示:胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫使得淋巴结清除数量和手术时间增加,两组患者除了延迟胃排空发生率在扩大淋巴结清扫患者中显著增加外,其他并发症、术后死亡率以及长期生存时间方面没有显著差异。

结论:尽管胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫可获得较多的淋巴结清除数量,但延长了手术时间且不能延长患者的长期生存时间,对患者的长期生存没有益处并在某种程度上可能增强手术并发症的风险。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:壶腹周围癌;胰十二指肠切除术;淋巴结清扫;系统评价

核心提示:尽管胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫可获得较多的淋巴结清除数量,但延长了手术时间且不能延长患者的长期生存时间,对患者的长期生存没有益处并在某种程度上可能增强手术并发症的风险,可为临床医师在治疗抉择上提供循证医学证据。

陈舒婷, 邱建国, 员海超, 蒋辉, 吴泓. 胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫治疗壶腹周围癌疗效的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3887-3893 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3887.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3887>

0 引言

壶腹周围地区的恶性肿瘤包括胰头、壶腹腺癌、胆管下端癌以及十二指肠球部腺癌,其中,胰头是最常见的恶性肿瘤,占有行胰十二指肠切除术患者中的80%^[1]。壶腹腺癌是一种比较少见的恶性肿瘤,但他是壶腹周围地区第2个最常见的癌症,其发病率为10%-20%^[2,3]。与胰腺癌相比,壶腹癌通常具有较好的临床结局,据报道,肿瘤根治性切除后其5年存活率可达

10%-20%^[4-6]。有几项研究表明^[7-9],胰十二指肠切除术后阳性手术切缘与手术切缘阴性病例相比,两组在远期生存率上具有显著差异,其他独立干预患者预后的因素包括是否存在淋巴结转移等。超过1/3的胰头癌患者,在确诊时往往存在门腔间隙、肠系膜上动脉和肝十二指肠韧带的胰腺段的淋巴结转移^[10]。因此,行标准胰十二指肠切除术时联合受累淋巴结清扫显得更为重要,此外,已有研究证明了根治性淋巴结清扫相比标准淋巴结清扫术对延长胰头癌患者的生存时间更具有优势^[11-13]。然而,一个由Nimura^[14]主持的多中心的随机试验,将101例患者随机分配到为标准区域淋巴结切除和扩大淋巴结切除组,结果显示两组患者在生存时间上没有显著差异。胰十二指肠切除术中是否联合扩大的淋巴结清扫长期以来一直存在冲突和争议。因此本研究采用Cochrane系统评价的方法,比较标准淋巴结清扫和扩大淋巴结清扫治疗壶腹周围癌的有效性和安全性,为临床医师和患者选择治疗方式提供最佳的循证依据。

1 材料和方法

1.1 材料 行胰十二指肠切除术并经病理学检查证实为胰头、壶腹腺癌、胆管下端癌、十二指肠球部腺癌者,患者年龄、种族、国籍、性别不限。采用随机双盲对照试验,无论是否采用分配隐藏或盲法。发表文种为英文。

1.2 方法

1.2.1 干预措施:治疗组采用腹腔镜手术治疗或分胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫,对照组采用胰十二指肠切除术联合标准淋巴结清扫。

1.2.2 结局指标:(1)手术学相关指标,包括手术时间、术中失血量、围手术期输血率、外科切缘阳性率以及淋巴结清除数目等;(2)术后并发症,包括术后胃排空延迟、腹腔脓肿、胰漏、胆漏、胆道感染、切口感染以及淋巴囊肿等发热;(3)住院期间病死率;(4)术后恢复指标,包括术后疼痛、术后排气时间、术后进食时间、术后恢复活动时间以及术后住院时间;(5)术后生存时间包括总生存率和无瘤生存率

1.2.3 检索策略:以“periampullary adenocarcinoma、pancreaticoduodenectomy、lymphnectomy”等为检索词,计算机检索Cochrane Library and Controlled Trials Registry(1991-2010)、Medline Ovid(1956-2010)、PubMed(1977-2010)、Science Direct(1956-2010)、Web of Knowl-

表 1 纳入文献的一般特征

纳入研究	病例数(<i>n</i>) SLND/ELND	纳入标准	排除标准	结局指标的比较
				SLND vs ELND
Farnell等 ^[16] 2005	40/39	(1)研究时间: 1998–2001年 (2)患者: 胰头癌	(1)壶腹癌、十二指肠腺癌、 胆管癌患者; (2)无功能胰岛细胞肿瘤患者	手术时间: ELND>SLND 淋巴结清扫数量: ELND>SLND 死亡率: NS 并发症: NS 1、3、5年生存率: NS
Yeo等 ^[17] 2002	146/148	(1)研究时间: 1998–2001年 (2)患者: 壶腹周围腺癌	(1)缺乏知情同意书; (2)术前接受放化疗患者; (3)病理提示肿瘤未在壶腹区	死亡率: 4% vs 2%. NS; 并发症: 29% vs 43%. NS 住院时间: NS 1、3、5年生存率: NS
Nguyen等 ^[18] 2003	55/50	(1)研究时间: 1996–2001年 (2)患者: 壶腹周围腺癌	(1)术前接受放化疗患者; (2)病理提示非壶腹区肿瘤; (3)缺乏知情同意书	胰漏: ELND>SLND; 住院时间: ELND>SLND 1、3、5年生存率: NS
Yeo等 ^[19] 1999	56/58	(1)研究时间: 1996–1997年 (2)患者: 壶腹周围腺癌 (3)获得知情同意书	(1)术前接受放化疗患者; (2)病理提示非壶腹区肿瘤; (3)缺乏知情同意书	胃排空延迟: ELND>SLND 死亡率: NS 1年生存率: 77% vs 83%, NS 2年生存率: 47% vs 56%, NS
Popiela等 ^[20] 1998	40/41	(1)研究时间: 1991–1994年 (2)患者: 胰头癌	(1)存在腹腔或肝脏转移的患者	死亡率: NS 并发症: NS 1、3、5年生存率: NS

SLND: 标准淋巴结清扫组; ELND: 扩大淋巴结清扫组; NS: 无统计意义。

edge(1956-2010)数据库, 并查阅文后所附参考文献。文种限制为英语。

1.2.4 资料提取: 由两名评价员按预先确立的纳入和排除标准独立筛选检索结果。首先阅读文章题目和摘要, 对难以判断是否最终纳入的文献的通过获取全文进一步筛查。如遇分歧, 通过讨论或由第三方最终裁决。文献中相关数据包括试验的基本情况、试验设计、研究和随访时间、干预措施、结果测量指标由两名评价员独立提取资料并互相核实, 不一致处与原始资料进行核对, 缺乏或有疑问的资料与作者联系予以补充。

1.2.5 质量评价: 纳入随机对照试验用Jadad评分系统进行质量评价^[15], 主要参照以下的标准: (1)是否采用随机方法进行分组; (2)是否实行分配隐藏; (3)是否采用盲法; (4)结局数据是否完整。研究文献的质量评价及偏倚的评估仍由两名评价员独立进行, 如遇分歧讨论或由第3位评价员裁决。

统计学处理 统计软件采用Cochrane协作网提供的RevMan5.0.22软件。异质性分析采用 χ^2 检验, 若纳入研究具有临床同质性且 $P>0.1$, $I^2\leq 70\%$ 时, 表明统计学异质性较小, 可采用固定

效应模型合并分析, 当 $P\leq 0.1$, $I^2>70\%$ 时, 统计学异质性较大, 需分析异质性来源, 进行亚组分析。若无确切异质性原因时, 可考虑使用随机效应模型分析。如果研究存在明显临床异质性时, 仅做描述性研究。二分类变量采用优势比(odds ratio, OR), 计量资料采用均数差(mean deviation, MD), 均以95%CI表示。

2 结果

2.1 纳入研究的一般情况及质量评价 通过电子检索, 最初共检索出112篇文献, 按照预先确定的纳入标准, 逐篇查阅、分析、评价, 最终纳入5篇随机对照临床试验^[16-20], 共计673例患者。其中标准淋巴结清扫组337例, 扩大淋巴结清扫组336例。所纳入文献的一般情况及质量评价如表1, 2。

2.2 疗效评价 所有关于两组在手术相关指标、术后指标、术后并发症发生率的系统评价结果总结在表3中。

2.2.1 手术相关指标: (1)手术时间5个研究均报道了手术时间, 异质性检验结果显示两组差异有统计学意义($P=0.05$), 故采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示扩大清扫组

■同行评价

本文紧跟研究前沿, 通过对比胰十二指肠切除术伴扩大淋巴结清扫与标准淋巴结清扫的相关因素, 提供可靠的数据支持及相应询证医学依据, 也为今后该领域进一步研究提供相应证据及资料。

表 2 纳入文献的Jadad评分

纳入文献	随机化	盲法	隐藏	总Jadad评分
Farnell等 ^[16]	1	0	1	2
Yeo等 ^[17]	1	1	1	3
Nguyen等 ^[18]	1	0	1	2
Yeo等 ^[19]	1	1	0	2
Popiela等 ^[20]	1	1	1	3

表 3 胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清除与标准淋巴结清除组系统评价结果

结局指标	文献数量	患者数量	OR&MD值	95%置信区间	P值	异质性检验		
						I ² 值	P值	
手术相关指标								
手术时间	5	673	-32.71	-38.81	-27.61	<0.00001	63%	0.05
术中出血量	3	483	-38.41	-92.93	16.11	0.17	89%	<0.0001
输血率	2	160	1.35	0.29	6.22	0.7	66%	0.09
输血量	4	594	0.01	-0.08	0.1	0.87	84%	0.003
术后指标								
淋巴结清除数量	3	489	-7.25	-13.77	0.73	0.03	100%	<0.0001
住院时间	5	673	-3.05	-3.39	-2.71	<0.00001	29%	0.24
围手术期死亡率	4	568	1.42	0.56	3.61	0.41	0	0.75
总的并发症发生率	5	673	0.37	0.18	0.79	0.1	68%	0.01
胃排空延迟	4	592	0.43	0.25	0.73	0.002	0	0.52
胰漏	5	673	0.5	0.24	1.05	0.07	35%	0.18
腹腔脓肿	5	673	0.7	0.33	1.49	0.35	0	0.64
切口感染	4	592	0.53	0.25	1.11	0.09	12%	0.33
再手术率	3	454	1.93	0.42	2.1	0.87	0	0.9
胆漏	4	592	0.43	0.18	1.02	0.06	0	0.54
胆管炎	3	454	0.86	0.28	2.63	0.79	0	0.94
淋巴囊肿	3	454	0.25	0.05	1.19	0.08	0	0.98

OR: 比值比; MD: 均数差。

手术时间与标准组相比差异有统计学意义(MD = -32.71, 95%CI: -37.81--27.61; $P < 0.00001$); (2) 淋巴结清除数量3个研究报道了淋巴结清扫数目, 各研究间有异质性($P < 0.0001$), 采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示扩大清扫组淋巴结清除数量与标准组相比差异有统计学意义(MD = -7.25, 95%CI: -13.77-0.73; $P = 0.03$); (3) 术中失血量3个研究报道了术中失血量, 各研究间有统计学异质性($P < 0.0001$), 但我们未发现原始研究间存在临床异质性, 因此采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示两组差异没有统计学意义(MD = -38.41, 95%CI: -92.93--16.11, $P < 0.0001$), 尚不能认为标准组术中失血量低于扩大淋巴结清扫组; (4) 术中输血率2个研究报道了术中输血率, 其余3个研究未提供可利用的数据, 异质性检验结果显示两组

差异有统计学意义($P = 0.09$), 故采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示两组差异无统计学意义(OR = 1.35, 95%CI: 0.29-6.22, $P = 0.7$), 尚不能认为标准组术中输血率低于扩大淋巴结清扫组; (5) 术中输血量4个研究报告了术中输血量并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间差异有统计意义($P = 0.03$), 故采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示标准组术中输血量与扩大组相比差异无统计学意义(OR = 0.01, 95%CI: -0.08-0.10, $P = 0.87$), 尚不能认为扩大淋巴结清扫组术中输血量高于标准组。

2.2.2 术后相关指标: (1) 住院时间: 纳入研究均报告了两组住院时间的比较结果, 共673例患者。异质性检验结果显示两组差异无统计学意义($P = 0.24$), 故采用固定效应模型进行合并分析。

Meta分析结果显示扩大清扫组住院时间与标准组相比差异有统计学意义($MD = -3.03$, $95\%CI: -3.39 \sim -2.71$, $P < 0.00001$); (2)术后死亡率: 4个研究均报告了术后死亡率, 异质性检验结果显示研究间差异无统计学意义($P = 0.75$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准组术后死亡率与扩大清扫组相比差异无统计学意义($OR = 1.42$, $95\%CI: 0.56 \sim 3.61$, $P = 0.41$), 尚不能认为扩大清扫组术后死亡率高于标准组.

2.2.3 术后并发症: (1)胃排空延迟4个研究报告了术后胃排空延迟的发生率并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间差异无统计学意义($P = 0.52$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准组胃排空延迟发生率与扩大清扫组相比差异有统计学意义($MD = 0.43$, $95\%CI: 0.25 \sim 0.73$, $P = 0.002$); (2)胰漏: 纳入研究均报告了两组术后胰漏结果的比较, 共576例患者. 异质性检验结果显示两组差异无统计学意义($P = 0.18$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示扩大清扫组术后胰漏发生率与标准组相比差异无统计学意义($OR = 0.5$, $95\%CI: 0.24 \sim 1.05$, $P = 0.07$), 尚不能认为扩大清扫组术后胰漏发生率高于标准组; (3)腹腔脓肿: 5个研究均报道了术后腹腔脓肿发生率, 异质性检验结果显示两组差异无统计学意义($P = 0.64$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示扩大清扫组术后腹腔脓肿发生率与标准组相比差异无统计学意义($OR = 0.7$, $95\%CI: 0.33 \sim 1.49$, $P = 0.35$), 尚不能认为两组在术后腹腔脓肿发生率方面存在差异; (4)切口感染: 4个研究报告了术后切口感染发生率并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间差异无统计学意义($P = 0.33$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准清扫组切口感染发生率与扩大组相比差异无统计学意义($OR = 0.53$, $95\%CI: 0.25 \sim 1.11$, $P = 0.09$), 尚不能认为扩大清扫组术后切口感染率高于标准组; (5)再手术率: 3个研究均报道了术后再手术率, 异质性检验结果显示两组差异无统计学意义($P = 0.90$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示扩大淋巴结清扫组术后再手术率与标准组相比差异无统计学意义($OR = 1.93$, $95\%CI: 0.42 \sim 2.1$, $P = 0.87$), 尚不能认为扩大淋巴结清扫使术后再手术率增加; (6)胆漏: 4个研究报告了术后胆漏发生率并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间

差异无统计意义($P = 0.54$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准清扫组胆漏发生率与扩大组相比差异无统计学意义($OR = 0.43$, $95\%CI: 0.18 \sim 1.02$, $P = 0.06$), 尚不能认为扩大清扫组术后胆漏发生率高于标准组; (7)胆管炎: 3个研究报告了术后胆管炎发生率并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间差异无统计意义($P = 0.94$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准清扫组胆管炎发生率与扩大组相比差异无统计学意义($OR = 0.86$, $95\%CI: 0.28 \sim 2.63$, $P = 0.79$), 尚不能认为扩大组术后胆管炎发生率高于标准清扫组; (8)淋巴囊肿: 3个研究报告了术后淋巴囊肿发生率并提供了可利用的数据, 异质性检验结果显示研究间差异无统计意义($P = 0.98$), 故采用固定效应模型进行合并分析. Meta分析结果显示标准组淋巴囊肿发生率与扩大组相比差异无统计学意义($OR = 0.25$, $95\%CI: 0.05 \sim 1.19$, $P = 0.08$), 尚不能认为扩大组术后淋巴囊肿发生率高于标准清扫组.

2.2.4 中位生存时间和累计生存时间: 4项研究报道了术后患者的生存情况, 他们都没有表现出两组间的显著差异. 由Farnell等^[16]进行的一项前瞻性随机临床对照试验表明: 扩大清扫组中位生存时间为18.8 mo, 而标准组中位生存时间为26 mo. 扩大清扫组累计1、3和5年生存率分别为71%、25%和17%; 而标准组分别为82%、41%和16%, 两组差别无统计意义($P = 0.32$). 同样, Yeo等^[17]的研究比较了标准组与扩大组的术后生存时间, 结果标准组中位生存时间(28 mo vs 30 mo, $P = 0.024$)和总生存时间(3年: 38% vs 36%, $P = 0.003$), 两组差别无统计意义. 其次, Yeo^[19]的研究表明标准组1、2年累计生存率分别为77%和47%而扩大组为83%和56%, 两组差别无统计意义($P = 0.6$). 最后, Popiela等^[20]试验表明标准组的中位生存时间为335 d, 而扩大组为500 d, 两组差异无统计意义($P = 0.65$).

3 讨论

本系统评价共纳入5个对胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫和标准淋巴结清扫比较的随机双盲对照试验. 所有研究的方法学质量评价尚可. 系统评价结果显示: 胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫能够获得较多的淋巴结数目, 但这并不能够给患者的长期生存带来益处. 包括胰头癌在内的壶腹周围癌行胰十二指肠切除

术时常规要求切除胰头、远端胃、十二指肠及其周围的淋巴结,包括胰头前后淋巴结、幽门上下淋巴结、肝十二指肠韧带下方淋巴结及胆管下段淋巴结等^[21]。这些部位淋巴结的清除对手术效果的影响是肯定的,尤其对于术后病检阳性者。

自1973年Fortner^[22]首次提出根治性切除以延长胰腺癌患者生存时间以来,胰十二指肠切除联合淋巴结清扫已成为胰腺癌和壶腹周围腺癌治疗的一种根治方式,但长期以来,是否对行胰十二指肠切除术患者实施彻底的淋巴结清扫存在较大的争论。在日本,胰十二指肠切除术联合腹膜后淋巴结清扫是胰腺癌的标准术式且研究表明淋巴结廓清可大大提高术后长期生存率。然而,较多欧美学者研究则表明,扩大淋巴结清扫范围并不能延长患者的生存时间并有可能增加手术后并发症发生率^[19]。

目前关于扩大淋巴结清扫的定义尚未明确。一般认为,肝十二指肠韧带骨骼化、后腹膜淋巴结广泛清扫是扩大淋巴结清扫的重要组成部分。在我们的系统评价中,在患者基线情况一致下,扩大淋巴结清除显著延长了手术时间、增加了淋巴结清除的数量,除导致术后胃排空延迟发生率增加外并未导致术中失血、输血量以及其他术后并发症的额外增加,单纯扩大淋巴清除范围可能减少局部肿瘤的复发,但不能延长患者的长期生存时间,这与大多数文献报道的结论一致^[16,17,20],也为我们临床医师在患者治疗方式上提供了明确的循证证据。

本研究结果存在一定的局限性,首先影响壶腹周围癌行胰十二指肠切除术后长期生存的因素有很多,比如肿瘤大小、肿瘤浸润程度、肿瘤分化程度、输血、手术时间、术前黄疸持续时间以及术前血清总胆红素水平等^[23,24],淋巴结转移只是其中影响因素之一,因此有必要开展对其多因素的分析;其次,纳入的5个RCT均为小样本随机对照试验,且研究质量为中等,样本含量小,缺乏多中心大样本临床对照研究,易受多种因素影响并增加偏倚产生的机会。尽管所有研究均有明确的纳入标准和排除标准,但由于所纳入的某些研究未描述具体的随机方法、随机分配方案的隐藏,也未能全部做到双盲法,因此存在选择性偏倚、实施偏倚和测量偏倚的可能性。因此,应当开展高质量、多中心、大样本、随机、双盲对照试验进一步证实

胰十二指肠切除术联合扩大淋巴结清扫在治疗壶腹周围癌中的疗效和安全性。

4 参考文献

- 1 Hurtuk MG, Hughes C, Shoup M, Aranha GV. Does lymph node ratio impact survival in resected perampullary malignancies? *Am J Surg* 2009; 197: 348-352 [PMID: 19245913 DOI: org/10.1016/j.amjsurg.2008.11.010]
- 2 Yeo CJ, Cameron JL, Sohn TA, Lillemoe KD, Pitt HA, Talamini MA, Hruban RH, Ord SE, Sauter PK, Coleman J, Zahurak ML, Grochow LB, Abrams RA. Six hundred fifty consecutive pancreaticoduodenectomies in the 1990s: pathology, complications, and outcomes. *Ann Surg* 1997; 226: 248-257; discussion 257-260 [PMID: 9339931]
- 3 Stephens J, Kuhn J, O'Brien J, Preskitt J, Derrick H, Fisher T, Fuller R, Lieberman Z. Surgical morbidity, mortality, and long-term survival in patients with peripancratic cancer following pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg* 1997; 174: 600-603; discussion 603-604 [PMID: 9409581 DOI: org/10.1016/S0002-9610]
- 4 Cameron JL, Riall TS, Coleman J, Belcher KA. One thousand consecutive pancreaticoduodenectomies. *Ann Surg* 2006; 244: 10-15 [PMID: 16794383]
- 5 Richter A, Niedergethmann M, Sturm JW, Lorenz D, Post S, Trede M. Long-term results of partial pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreatic head: 25-year experience. *World J Surg* 2003; 27: 324-329 [PMID: 12607060 DOI: 10.1007/s00268-002-6659-z]
- 6 Wagner M, Redaelli C, Lietz M, Seiler CA, Friess H, Büchler MW. Curative resection is the single most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Br J Surg* 2004; 91: 586-594 [PMID: 15122610 DOI: 10.1002/bjs.4484]
- 7 Beger HG, Treitschke F, Gansauge F, Harada N, Hiki N, Mattfeldt T. Tumor of the ampulla of Vater: experience with local or radical resection in 171 consecutively treated patients. *Arch Surg* 1999; 134: 526-532 [PMID: 10323425]
- 8 Allema JH, Reinders ME, van Gulik TM, Koelmay MJ, Van Leeuwen DJ, de Wit LT, Gouma DJ, Obertop H. Prognostic factors for survival after pancreaticoduodenectomy for patients with carcinoma of the pancreatic head region. *Cancer* 1995; 75: 2069-2076 [PMID: 7697596 DOI: 10.1002/1097-014]
- 9 Lim JE, Chien MW, Earle CC. Prognostic factors following curative resection for pancreatic adenocarcinoma: a population-based, linked database analysis of 396 patients. *Ann Surg* 2003; 237: 74-85 [PMID: 12496533]
- 10 Beger HG, Thorab FC, Liu Z, Harada N, Rau BM. Pathogenesis and treatment of neoplastic diseases of the papilla of Vater: Kausch-Whipple procedure with lymph node dissection in cancer of the papilla of Vater. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11: 232-238 [PMID: 15368106 DOI: 10.1007/s00534-004-0895-6]
- 11 Manabe T, Ohshio G, Baba N, Miyashita T, Asano N, Tamura K, Yamaki K, Nonaka A, Tobe T. Radical pancreatectomy for ductal cell carcinoma of the head of the pancreas. *Cancer* 1989; 64: 1132-1137 [PMID: 2547508 DOI: 10.1002]
- 12 Ishikawa O, Ohigashi H, Sasaki Y, Kabuto T, Fu-

- rukawa H, Nakamori S, Imaoka S, Iwanaga T, Kasugai T. Practical grouping of positive lymph nodes in pancreatic head cancer treated by an extended pancreatectomy. *Surgery* 1997; 121: 244-249 [PMID: 9068665 DOI: org/10.1016/S0039-6060]
- 13 Henne-Bruns D, Kremer B, Meyer PU, Vogel I, Schröder S. Partial duodenopancrea tectomy with radical lymphadenectomy in patients with pancreatic and periampullary carcinomas: initial results. *Hepato Gastroenterol* 1993; 40: 145-149
- 14 Nimura, Y, Nagino, M, Kato, H, Miyagawa, S, Yamaguchi, A, Kinoshita, T, Yasui K. Regional versus extended lymph node dissection in radical pancreatoduodenectomy for pancreatic cancer: A multicenter, randomized controlled trial. *HPB (Oxford)* 2004; 6(Suppl I): 2
- 15 Martyn-St James M, Carroll S. Meta-analysis of walking for preservation of bone mineral density in postmenopausal women. *Bone* 2008; 43: 521-531 [PMID: 18602880 DOI: org/10.1016/0197-2456]
- 16 Farnell MB, Pearson RK, Sarr MG, DiMagno EP, Burgart LJ, Dahl TR, Foster N, Sargent DJ. A prospective randomized trial comparing standard pancreatoduodenectomy with pancreatoduodenectomy with extended lymphadenectomy in resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Surgery* 2005; 138: 618-628; discussion 628-630 [PMID: 16269290 DOI: org/10.1016/j.surg.2005.06.044]
- 17 Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sohn TA, Campbell KA, Sauter PK, Coleman J, Abrams RA, Hruban RH. Pancreaticoduodenectomy with or without distal gastrectomy and extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma, part 2: randomized controlled trial evaluating survival, morbidity, and mortality. *Ann Surg* 2002; 236: 355-366; discussion 366-368 [PMID: 12192322]
- 18 Nguyen TC, Sohn TA, Cameron JL, Lillemoe KD, Campbell KA, Coleman J, Sauter PK, Abrams RA, Hruban RH, Yeo CJ. Standard vs. radical pancreaticoduodenectomy for periampullary adenocarcinoma: a prospective, randomized trial evaluating quality of life in pancreaticoduodenectomy survivors. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 1-9; discussion 9-11 [PMID: 12559179 DOI: 10.1016/S1091-255X]
- 19 Yeo CJ, Cameron JL, Sohn TA, Coleman J, Sauter PK, Hruban RH, Pitt HA, Lillemoe KD. Pancreaticoduodenectomy with or without extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma: comparison of morbidity and mortality and short-term outcome. *Ann Surg* 1999; 229: 613-622; discussion 622-624 [PMID: 10235519]
- 20 Popiela T, Kedra B, Sierzega M, Gurda A. Risk factors of pancreatic fistula following pancreaticoduodenectomy for periampullary cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1484-1488 [PMID: 15362783]
- 21 吴金术, 彭创. 胰头十二指肠切除术. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1369-1372
- 22 Fortner JG. Regional resection of cancer of the pancreas: A new surgical approach. *Surgery* 1973; 73: 307-320
- 23 陈道瑾, 成伟. 胰十二指肠切除术的出血和止血. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 482-484
- 24 Popiela T, Kedra B, Sierzega M, Gurda A. Risk factors of pancreatic fistula following pancreaticoduodenectomy for periampullary cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1484-1488 [PMID: 15362783]

编辑 田滢 电编 闫晋利



双气囊内镜对小肠疾病的临床价值

张毅, 游思洪, 彭绍源, 黄光明

■背景资料

双气囊内镜(double balloon endoscopy, DBE)是第一个可以具有介入功能的小肠内窥镜技术, 因其具有对小肠进行直接观察并对病变部位进行相应活检、治疗的优点, 为小肠疾病的诊疗打开了一片新的天地。

张毅, 游思洪, 彭绍源, 黄光明, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

张毅, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由黄光明设计; 资料收集、数据分析及论文写作由张毅完成; 游思洪、彭绍源及黄光明负责审核。

通讯作者: 黄光明, 副教授, 210011, 江苏省南京市鼓楼区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心。

hgming@njmu.edu.cn

电话: 025-58509880

收稿日期: 2013-08-22 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2013-12-08

Clinical value of double balloon endoscopy in small intestinal diseases

Yi Zhang, Si-Hong You, Zhao-Yuan Peng, Guang-Ming Huang

Yi Zhang, Si-Hong You, Zhao-Yuan Peng, Guang-Ming Huang, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Guang-Ming Huang, Associate Professor, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Gulou District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. hgming@njmu.edu.cn

Received: 2013-08-22 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-20 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic and therapeutic value and safety of double balloon endoscopy (DBE) in small intestinal diseases.

METHODS: A retrospective analysis of 123 patients who underwent DBE under conscious sedation anesthesia with suspected small intestinal diseases from January 2009 to February 2013 was performed. Oral and anal DBE was performed in 52 and 55 patients, respectively, while 16 patients underwent a combination of both approaches. Endoscopic tissue biopsy of suspicious lesions was performed routinely.

RESULTS: The overall diagnostic yield of DBE was 75.6% (93/123), with nonspecific intestinal inflammations in 37 patients and Crohn's dis-

eases in 17 patients. There were benign or malignant tumors in 13 patients, including small intestine adenocarcinoma in 5 patients, stromal tumors and lymphomas in 3, lipomas in 2, and polyps in 11 (including inflammatory polyps in 8 and Peutz-Jeghers syndrome in 3), vascular diseases in 6 (including vascular malformations in 4 and angiodysplasia in 2), ulcers in 4 and other lesions in 5 (including lymphangiectasia, small intestinal diverticulum, Behcet's disease, enterocystic fistula and portal hypertensive enteropathy). In addition, there were three cases of external compressive lesions. The overall therapeutic yield of DBE was 9.8% (12/123), including endoscopic snare and electric coagulation or cutting in all polyps and clipping (with a titanium clip) in one case of vascular malformation with active bleeding. There were no severe complications such as bleeding, perforation, and pancreatitis.

CONCLUSION: DBE is a method with high diagnostic value, safety and reliability for small intestinal diseases, and can be used for endoscopic treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Double balloon endoscopy; Small intestinal diseases; Diagnosis; Treatment; Complications

Zhang Y, You SH, Peng ZY, Huang GM. Clinical value of double balloon endoscopy in small intestinal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3894-3898
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3894.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3894>

摘要

目的: 探讨双气囊内镜对小肠疾病的诊断、治疗价值及其安全性。

方法: 回顾分析了2009-01/2013-02怀疑有小肠疾病而施行双气囊内镜检查患者123例, 均在清醒镇静麻醉状态下进行。其中, 经口进镜52例, 经肛进镜55例, 经口加经肛进镜共16例, 镜下可疑病变常规进行组织病理活检。

■同行评议者
姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

结果: 123例患者共有93例检出各类小肠病变, 总诊断率为75.6%, 其中非特异性炎症37例, 克罗恩病17例, 肿瘤13例(其中腺癌5例, 淋巴瘤、间质瘤各3例, 脂肪瘤2例), 小肠息肉11例(其中炎性息肉8例, 家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病3例), 血管病变6例(其中血管畸形4例, 毛细血管扩张2例), 溃疡4例, 其他5例(其中淋巴管扩张、小肠憩室、白塞病、小肠套叠、门脉高压性肠病各1例), 另有3例患者发现小肠外压性病变。经双气囊内镜总治疗率为9.8%, 其中小肠息肉行内镜下圈套器套扎及电凝、电切治疗, 另有1例血管畸形因活动性出血予以钛夹夹闭。所有患者均未发生出血、穿孔及胰腺炎等严重并发症。

结论: 双气囊内镜是一种对小肠疾病诊断价值较高、安全可靠的检查手段, 并可进行相应的内镜下治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 双气囊内镜; 小肠疾病; 诊断; 治疗; 并发症

核心提示: 双气囊内镜(double balloon endoscopy, DBE)是第一个可以具有介入功能的小肠内窥镜技术, 其对小肠疾病的总体诊断率可达60%以上, 目前已被公认为是诊断小肠疾病最为重要的手段之一。DBE已被广泛应用于小肠息肉切除、血管病变等内镜下治疗, 再出血率低、无明显并发症。

张毅, 游思洪, 彭昭源, 黄光明. 双气囊内镜对小肠疾病的临床价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3894-3898 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3894.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3894>

0 引言

小肠是消化系统最长的器官, 具有弯曲、位置游离且距消化系两端远的特点。长期以来小肠疾病的诊治一直是消化系统的难点和盲区, 常规的诊断方法如腹部彩超、腹部CT、消化系钡餐、血管造影、放射性核素扫描等都有各自的局限性, 造成许多小肠疾病难以确诊^[1]。但随着胶囊内镜(capsule endoscopy, CE)^[2]和双气囊内镜(double balloon endoscopy, DBE)^[3]在21世纪初的出现, 这个难题得到了解决。CE可以在患者没有任何不适的情况下通过无线内镜成像观察小肠, 虽然他有技术上的突破, 但仍然没有提供内镜介入功能包括活检或治疗。DBE是第一个可以具有介入功能的小肠内窥镜技术, 因其具有对小肠进行直接观察并对病变部位进行相应活

检、治疗的优点, 为小肠疾病的诊疗打开了一片新的天地。本文就我院2009-01/2013-02期间怀疑可能有小肠疾病的患者施行的DBE检查进行统计分析, 旨在探讨DBE的诊断、治疗价值及其安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 对南京医科大学第二附属医院消化医学中心2009-01/2013-02怀疑可能有小肠疾病的患者施行DBE检查。所有患者检查前均签署知情同意书, 并在清醒镇静麻醉状态下进行检查。其中, 男73例, 女50例, 年龄51.5岁±16.3岁, 其中, 慢性腹痛57例, 不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)47例(黑便31例, 便血16例), 小肠梗阻11例, 慢性腹泻8例。经口进镜52例, 经肛进镜55例, 经口加经肛进镜(双侧进镜)16例。富士能EN450 P5双气囊电子内镜, 包括内镜、外套管、主机和气泵。内镜长200 cm, 外径8.5 mm, 镜身前端有可装卸的乳胶气囊, 充气后直径2.5 cm, 气囊压力6 kPa。带有气囊的外套管长150 cm, 气囊充气后直径5 cm, 充气后气囊压力6 kPa, 专用气泵控制气囊充气及放气, 小肠镜视角120度。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 行DBE检查前必须严格掌握适应证, 排除重要脏器严重功能异常、高度麻醉风险、无法耐受或配合内镜检查、相关实验室检查明显异常(如重度贫血、血浆白蛋白严重低下)、完全性小肠梗阻无法完成肠道准备、多次腹部手术史、低龄儿童、其他高风险状态或病变(如中度以上食管-胃底静脉曲张、大量腹水等)、孕妇等禁忌证。所有患者术前禁食12 h或进食少量流质饮食3 d, 检查前日晚上及当日早晨服用肠道清洁剂(复方聚乙二醇电解质散)至排出无渣水样便。

1.2.2 操作: 检查方式包括经口和经肛。怀疑空肠疾病或病变部位难以判断时先考虑顺行方式, 怀疑回肠疾病时则先考虑逆行方式, 参照Yamamoto等^[3]介绍的方法操作。发现病变时, 常规在病灶部位取活检标本送病理检查。操作由2名医师和1名护士共同完成, 整个操作过程均在清醒镇静麻醉状态下进行, 由1名麻醉科医师负责麻醉操作和心电监护。在操作过程中医师应注意观察患者有无出血、穿孔等并发症。术后严密观察生命体征, 注意患者有无黑便、便血或腹痛等情况。

■研发前沿

DBE的问世对小肠疾病的诊断具有划时代的意义, 其对小肠疾病的总体诊断率可达60%以上, 目前已被公认为是诊断小肠疾病最为重要的手段之一。

■相关报道

Xin等通过Meta分析对十年来12823例双气囊内镜进行分析, 其中可疑中消化系出血患者占据62.5%, 所有患者检出病变中炎症性疾病(包括非特异性炎症及克罗恩病)、肿瘤及血管性疾病占据前3位。

■创新盘点

本文从本中心所进行的DBE检查结果入手,重点分析了DBE在炎症性疾病、肿瘤及血管性疾病中的诊疗进展,并对其并发症进行统计分析,对临床诊疗具有一定的指导意义。

表 1 双气囊内镜诊断小肠疾病分布(n)

病因	n	慢性腹痛	出血	慢性腹泻	小肠梗阻	构成比(%)
非特异性炎症	37	16	17	4	0	30.1
克罗恩病	17	7	6	2	2	13.8
肿瘤	13	6	3	0	4	10.6
息肉	11	2	7	0	2	8.9
血管病变	6	0	6	0	0	4.9
溃疡	4	2	2	0	0	3.3
其他	5	2	2	0	1	4
外压性疾病	3	1	0	0	2	2.4
阴性	27	21	4	2	0	22
合计	123	57	47	8	11	100

表 2 患者症状、进镜途径及其诊断率差异n1/n2(%)

途径	主要症状					合计
	慢性腹痛	黑便	便血	慢性腹泻	小肠梗阻	
经口	13/23(56.5)	14/17(82.4)	2/2(100)	1/2(50)	6/8(75)	36/52(69.2)
经肛	18/30(60)	9/9(100)	8/9(88.9)	4/5(80)	2/2(100)	41/55(74.5)
经口+经肛	4/4(100)	5/5(100)	5/5(100)	1/1(100)	1/1(100)	16/16(100)
合计	35/57(61.4)	28/31(90.3)	15/16(93.8)	6/8(75)	9/11(81.8)	93/123(75.6)

统计学处理 采用SPSS13.0进行统计学分析,统计结果采用统计描述、组间小肠疾病的病变检出率的比较采用 χ^2 检验进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠疾病的检出结果 123例患者共有93例患者检出各类小肠病变,总检出诊断率为75.6%(93/123),其中非特异性炎症37例,克罗恩病17例(年龄18-74岁,平均年龄为43.6岁 \pm 13.8岁),肿瘤13例(其中腺癌5例,淋巴瘤、间质瘤各3例,脂肪瘤2例),小肠息肉11例(其中炎性息肉8例,家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病3例),血管病变6例(其中血管畸形4例,毛细血管扩张2例),溃疡4例,其他5例(其中淋巴管扩张、小肠憩室、白塞病、小肠套叠、门脉高压性肠病各1例),另有3例患者发现小肠外压性病变(表1)。

2.2 不同年份的检出结果 2009-2013年5年间年检出率分别为71.4%(20/28)、73.5%(25/34)、75%(15/20)、76.7%(23/30)、90.1%(10/11),呈逐年上升趋势,但差异无统计学意义($P=0.779$)。

2.3 不同临床表现、进镜途径的检出结果 慢性腹痛诊断率为61.4%(35/57), OGIB诊断率为91.5%(43/47)(其中黑便90.3%,便血93.8%),两组诊断率之间存在统计学差异($P<0.05$)(表2)。

经口进镜诊断率为69.2%(36/52),经肛进镜诊断率为74.5%(41/55),而双侧进镜诊断率达100%(16/16),3组诊断率之间存在统计学差异($P<0.05$)。双侧进镜诊断率明显高于单纯经口或经肛,但经口和经肛之间诊断率无明显差异($P=0.541$)(表2)。

对于慢性腹痛患者,经口进镜诊断率为56.5%(13/23),经肛进镜诊断率为60.0%(18/30),双侧进镜诊断率为100%(4/4),三者之间无统计学差异($P=0.25$)。对于OGIB患者,经口进镜诊断率为84.2%(16/19),经肛进镜诊断率为94.4%(17/18),双侧进镜诊断率为100%(10/10),三者之间无统计学差异($P=0.297$)(表2)。

2.4 DBE下治疗结果 DBE总治疗率为9.8%(12/123),其中小肠息肉行内镜下圈套器套扎及电凝、电切治疗,另有1例血管畸形因活动性出血予以钛夹夹闭,其余患者未行内镜下治疗。

2.5 并发症 部分患者术后出现咽部不适、腹痛、腹胀等症状,但均可自行或经对症治疗缓解,无一例出现与检查或治疗相关的如急性胰腺炎、穿孔、出血等严重并发症。

3 讨论

小肠具有特殊的解剖学特点,常规的诊断方法因各自的局限性对小肠疾病的诊断率较低^[4]。

■应用要点

本文从DBE的检查结果出发,分析了不同临床表现、不同进镜途径等对于小肠疾病诊断率的影响,对于今后选择双气囊内镜检查有一定的指导意义。同时肯定了DBE对于小肠疾病内镜下治疗的积极作用及广泛前景。

DBE的问世对小肠疾病的诊断具有划时代的意义, 其对小肠疾病的总体诊断率可达60%以上^[5,6], 目前已被公认为是诊断小肠疾病最为重要的手段之一。

我们研究发现, 炎症性疾病(包括非特异性炎症及克罗恩病)、肿瘤及血管性疾病占据前3位, 这与Xin等^[6]Meta分析结果基本相近。我们的研究表明, 双气囊内镜对小肠疾病的总诊断率为75.6%, 与国外报道相近, 但仍有30例患者未发现病灶, 这可能跟我们引进DBE初期的技术不成熟及多数患者仅进行单侧进镜检查有关。尽管如此, 我们惊喜地发现, 随着经验的丰富及技术的成熟, DBE年诊断率虽无统计学差异, 但呈持续上升趋势, 这与Patel等^[7]报道的情况相似。

单纯侵犯小肠的克罗恩病是目前临床上诊断的难点, 但DBE的应用使其诊断率得到提升。Schulz等^[8]对怀疑小肠克罗恩病的16例患者施行DBE检查, 最后有11例患者得到确诊。而我们研究共检出小肠克罗恩病17例, 其平均年龄为43.6岁, 与克罗恩病多为青少年发病的年龄特点存在一定差异, 但可能与本研究样本量小有关。

与中国、日本等东亚国家不同, 血管性疾病占据欧美国家DBE发现疾病组成中的首位^[6]。本研究共发现血管性病变6例, 全部系因OGIB行DBE检查, 此类患者既可发生肠道慢性失血, 同时也可能出现血管破裂导致大出血, 需及时寻找病因并行内镜或外科手术治疗。日本学者建议对小肠出血的患者术前常规行DBE检查^[9]。

小肠肿瘤, 包括小肠腺癌、淋巴瘤、间质瘤及脂肪瘤等, 较胃肠道其他部位肿瘤少见, 但其在小肠病变中占据重要地位。临床多表现为腹痛、消化系出血, 少数可因肿瘤生长侵袭导致小肠梗阻。本组病例共发现小肠肿瘤13例, 其中4例发生小肠梗阻, DBE发现有2例因小肠多发脂肪瘤所致, 外科手术治疗效果好, 另有2例为小肠恶性肿瘤侵犯所致, 预后差。Chen等^[10]回顾性分析了400例DBE检查, 有16.8%的患者为小肠肿瘤, 其中69.2%为腺癌、间质瘤及淋巴瘤, 与我们研究结果类似。另外Honda等^[11]对159例确诊为小肠肿瘤的患者进行分析, 发现仅有5例患者DBE检查未发现, 其检出率远远高于CE, 且不受肿瘤大小影响, 因此推荐DBE作为小肠肿瘤的诊断方法。

如何选择合适进镜途径是另一棘手的问题, 多数可根据临床症状如黑便、血便及腹痛部位等进行预判。但需指出的是, 不是所有的病例

症状都很典型。本研究中9例黑便经肛进镜检出, 2例便血经口进镜检出, 另外由于腹腔内疼痛部位的不固定及牵涉痛, 无法对疼痛部位进行很好的判断, 因此积累临床经验, 根据症状、体征综合判断尤为重要。

DBE在国外已被广泛应用于小肠息肉切除、血管病变等内镜下治疗^[12,13], 再出血率低、无明显并发症。但在国内, DBE仍主要用于小肠疾病的诊断。本研究的123例DBE检查病例中, 我们仅仅进行了1例小肠血管畸形伴出血钛夹止血治疗及11例小肠息肉切除治疗, 治疗率明显低于国外同类研究。虽然我们使用的DBE可常规取组织活检, 也可进行钛夹止血治疗及息肉切除治疗, 但由于DBE的镜身长、质地较软、操作技术难度较高、肠管弯曲及重叠多等因素, 内镜下介入治疗目前仍处于探索阶段。国外文献报道的^[14-16]外科肠道手术后异常情况(如出血、梗阻)、Roux-en-Y术后逆行性胰胆管造影、小肠狭窄扩张术治疗等高难度的DBE检查, 也将是我们以后需要努力的方向。

DBE的严重并发症包括出血、穿孔、急性胰腺炎等, 其中急性胰腺炎是经口DBE的常见并发症。但我中心所有DBE操作尚未发现有以上严重并发症, 仅有少数患者术后出现咽部不适、腹痛、腹胀等症状, 经休息或对症治疗即可好转。目前尚无DBE术后预防急性胰腺炎的具体方法, 有报道推荐缩短经口DBE操作时间、注意球囊扩张位置以防造成胰腺压迫可预防急性胰腺炎的发生^[17]。一项前瞻性双盲随机对照试验^[18]应用乌司他丁预防经口DBE术后急性胰腺炎, 其中对照组及试验组分别有35.0%和47.8%的患者合并有高淀粉酶血症, 但仅对照组中1例患者发生了胰腺炎, 研究表明乌司他丁对预防胰腺炎没有意义。所以我们也常规使用乌司他丁。

在DBE操作过程中需注意以下要领: 包括循腔进镜、多吸气少注气、正确判断肠腔走向、滑镜、有效钩拉、转动式推进内镜、避免内镜结圈、经肛进镜时将内镜构建成同心圆形状、正确退镜等。我们研究中所有患者均在清醒镇静麻醉状态下行DBE检查, 患者痛苦小, 可迅速清醒, 未发现与麻醉有关的并发症。

DBE是一个安全、准确的检查手段, 并能对可疑病变进行活检, 明显提高了诊断的准确性及阳性率, 在小肠疾病的诊断方面有很大应用价值。随着内镜技术的不断进步, 内镜配套设备

■名词解释

家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病(Peutz-Jeghers's syndrome, PJS), 简称为黑斑息肉综合征, 主要表现为(1)黏膜、皮肤特定部位色素斑; (2)胃肠道多发性息肉; (3)遗传性。白塞病是一种全身慢性疾病, 基本病理改变为血管炎。临床以复发性口腔溃疡、生殖器溃疡、皮肤和眼部病变最为常见, 但全身各脏器均可受累。

■同行评价

小肠镜诊断和治疗价值已经明确, 本文123例患者检查的回顾性统计结果有一定的临床指导参考价值。

的不断更新换代, 相信DBE在小肠疾病的诊疗中必将有更加广阔的应用前景。

4 参考文献

- Costamagna G, Shah SK, Riccioni ME, Foschia F, Mutignani M, Perri V, Vecchioli A, Brizi MG, Picciocchi A, Marano P. A prospective trial comparing small bowel radiographs and video capsule endoscopy for suspected small bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 999-1005 [PMID: 12360460 DOI: 10.1053/gast.2002.35988]
- Iddan G, Meron G, Glukhovskiy A, Swain P. Wireless capsule endoscopy. *Nature* 2000; 405: 417 [PMID: 10839527 DOI: 10.1038/35013140]
- Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- Rösch T. Small-bowel endoscopy. *Endoscopy* 2002; 34: 896-900 [PMID: 12430074 DOI: 10.1055/s-2002-35294]
- Gerson LB. Outcomes associated with deep enteroscopy. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2009; 19: 481-496 [PMID: 19647653 DOI: 10.1016/j.giec.2009.04.007]
- Xin L, Liao Z, Jiang YP, Li ZS. Indications, detectability, positive findings, total enteroscopy, and complications of diagnostic double-balloon endoscopy: a systematic review of data over the first decade of use. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 563-570 [PMID: 21620401 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1239]
- Patel NC, Palmer WC, Gill KR, Cangemi D, Diehl N, Stark ME. Changes in efficiency and resource utilization after increasing experience with double balloon enteroscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 89-94 [PMID: 23515876 DOI: 10.4253/wjge.v5.i3.89]
- Schulz C, Mönkemüller K, Salheiser M, Bellutti M, Schütte K, Malfertheiner P. Double-balloon enteroscopy in the diagnosis of suspected isolated Crohn's disease of the small bowel. *Dig Endosc* 2013 Jul 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23855454 DOI: 10.1111/den.12142]
- Takeshita N, Otsuka Y, Nara S, Noie T, Ito K, Harahara Y, Furushima K, Konishi T. Utility of preoperative small-bowel endoscopy for hemorrhagic lesions in the small intestine. *Surg Today* 2012; 42: 536-541 [PMID: 22200758 DOI: 10.1007/s00595-011-0109-1]
- Chen WG, Shan GD, Zhang H, Li L, Yue M, Xiang Z, Cheng Y, Wu CJ, Fang Y, Chen LH. Double-balloon enteroscopy in small bowel tumors: a Chinese single-center study. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3665-3671 [PMID: 23801870 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3665]
- Honda W, Ohmiya N, Hirooka Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohno E, Kawashima H, Itoh A, Watanabe O, Ando T, Goto H. Enteroscopic and radiologic diagnoses, treatment, and prognoses of small-bowel tumors. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 344-354 [PMID: 22817787 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.443]
- Rahmi G, Samaha E, Lorenceau-Savale C, Landi B, Edery J, Manière T, Canard JM, Malamut G, Chatellier G, Cellier C. Small bowel polypectomy by double balloon enteroscopy: Correlation with prior capsule endoscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 219-225 [PMID: 23678374 DOI: 10.4253/wjge.v5.i5.219]
- Samaha E, Rahmi G, Landi B, Lorenceau-Savale C, Malamut G, Canard JM, Bloch F, Jian R, Chatellier G, Cellier C. Long-term outcome of patients treated with double balloon enteroscopy for small bowel vascular lesions. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 240-246 [PMID: 21946281 DOI: 10.1038/ajg.2011.325]
- Chua TJ, Kaffes AJ. Balloon-assisted enteroscopy in patients with surgically altered anatomy: a liver transplant center experience (with video). *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 887-891 [PMID: 22840290 DOI: 10.1016/j.gie.2012.05.019]
- Raithel M, Dormann H, Naegel A, Boxberger F, Hahn EG, Neurath MF, Maiss J. Double-balloon-enteroscopy-based endoscopic retrograde cholangiopancreatography in post-surgical patients. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2302-2314 [PMID: 21633596 DOI: 10.3748/wjg.v17.i18.2302]
- Hirai F, Beppu T, Sou S, Seki T, Yao K, Matsui T. Endoscopic balloon dilatation using double-balloon enteroscopy is a useful and safe treatment for small intestinal strictures in Crohn's disease. *Dig Endosc* 2010; 22: 200-204 [PMID: 20642609 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.00984.x]
- Pata C, Akyüz U, Erzin Y, Mutlu N, Mercan A, Dirican A. Post-procedure elevated amylase and lipase levels after double-balloon enteroscopy: relations with the double-balloon technique. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1982-1988 [PMID: 19731024 DOI: 10.1007/s10620-009-0956-4]
- Itaba S, Nakamura K, Aso A, Tokunaga S, Akiho H, Ihara E, Iboshi Y, Iwasa T, Akahoshi K, Ito T, Takayanagi R. Prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ulinastatin for prevention of hyperenzymemia after double balloon enteroscopy via the antegrade approach. *Dig Endosc* 2013; 25: 421-427 [PMID: 23368820 DOI: 10.1111/den.12014]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



老年人抑郁与肠易激综合征的相关性

王晶, 王晖, 王丹

王晶, 王晖, 王丹, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院
消化内科 湖北省武汉市 430033

王晶, 住院医师, 主要从事肠易激综合征发病机制的研究。

作者贡献分布: 此课题由王晶设计; 研究过程由王晶操作完成;
数据分析由王晶与王晖完成; 本论文写作由王晶、王晖及王丹
共同完成。

通讯作者: 王丹, 主任医师, 430033, 湖北省武汉市硚口区汉
正街473号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科。
skyeree@gmail.com

收稿日期: 2013-08-27 修回日期: 2013-09-23

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Association between depression and irritable bowel syndrome in elderly patients

Jing Wang, Hui Wang, Dan Wang

Jing Wang, Hui Wang, Dan Wang, Department of Gas-
troenterology, the Affiliated Puai Hospital of Tongji Medical
College, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan 430033, Hubei Province, China

Correspondence to: Dan Wang, Chief Physician, Depart-
ment of Gastroenterology, the Affiliated Puai Hospital of
Tongji Medical College, Huazhong University of Science and
Technology, 473 Hanzheng Street, Qiaokou District, Wuhan
430033, Hubei Province, China. skyeree@gmail.com

Received: 2013-08-27 Revised: 2013-09-23

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To investigate the association between de-
pression and irritable bowel syndrome (IBS) in
elderly patients.

METHODS: Seventy-four elderly patients (60-75
years, and > 75 years) and seventy-four non-
elderly patients (< 60 years) with IBS treated at
Department of Gastroenterology of the Affili-
ated Puai Hospital of Tongji Medical College of
Huazhong University of Science and Technology
from May 2010 to February 2013 were recruited.
The patients were assessed using the ZUNG self-
rating depression scale (SDS) and irritable bowel
syndrome-quality of life measure (IBS-QOL) to
predict the association between SDS and IBS-
QOL in each group.

RESULTS: The SDS score in elderly patients
was significantly higher than that in non-elderly

patients (< 60 years and 60-75 years: 50.51 ± 6.60 vs 62.29 ± 7.34 , $P < 0.001$; < 60 years and > 75 years: 50.51 ± 6.60 vs 63.72 ± 5.74 , $P < 0.001$), but there was no significant difference in the two subgroups of elderly patients (60-75 years and > 75 years: 62.29 ± 7.34 vs 63.72 ± 5.74 , $P > 0.5$). The majority of IBS types in the > 75 years group belonged to IBS-C, and the percentage of patients with IBS-C in the > 75 years group was significantly different from those in the < 60 years and 60-75 years groups (both $P < 0.05$), but there were no difference between the latter two groups. There were negative correlations between SDS score and IBS-QOL score ($P < 0.001$) in each group, and the IBS-QOL score in elderly patients was significantly lower than that in non-elderly patients ($P < 0.001$), although there was no difference between the two subgroups of elderly patients ($P > 0.5$).

CONCLUSION: Depression in elderly patients is prone to initiate irritable bowel syndrome, compared with non-elderly patients. The dominant IBS type in elderly patients is IBS-C, which severely affects the patient's quality of life.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Elderly; Depression; Irritable bowel syndrome

Wang J, Wang H, Wang D. Association between depression and irritable bowel syndrome in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3899-3903 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3899.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3899>

摘要

目的: 探讨老年人抑郁与肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 的相关性。

方法: 收集2010-05/2013-02华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科门诊与住院患者确诊IBS的老年患者74例(60-75岁和>75岁)及中青年患者74例(<60年), 采用Zung抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评估

■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 是临床常见病, 该病严重影响了患者的生活质量。

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■研究前沿

IBS作为常见的功能性胃肠病,在老年人中的发病率及亚型的分布尚有待研究。

以上2组人群的抑郁情况,使用IBS生活质量量表(IBM-QOL)预测不同年龄段的抑郁情况与其生活质量的相关性。

结果:在74例IBS老年患者及74例中青年患者中,<60岁组和60-75岁组,SDS评分(50.51 ± 6.60 vs 62.29 ± 7.34 , $P < 0.001$);<60岁组和>75岁组,SDS评分(50.51 ± 6.60 vs 63.72 ± 5.74 , $P < 0.001$);老年患者抑郁评分明显高于中青年患者,有统计学差异,但老年亚组无明显差异(60-75岁组和>75岁组,SDS评分(62.29 ± 7.34 vs 63.72 ± 5.74 , $P > 0.5$)).相比其他IBS亚型,在>75岁组中以IBS-C类型为主,与60-75岁组和<60岁组有明显差异($P < 0.05$),后两组IBS构成比无明显差异。在不同的年龄段中,抑郁与IBS生活质量均呈负相关($P < 0.001$),且老年患者生活质量评分明显低于中青年患者,有统计学差异($P < 0.001$),但老年亚组生活质量评分无明显差异($P > 0.5$)).

结论:与中青年相比,老年人抑郁更易发生肠易激综合征,且形式以便秘为主,并严重影响了患者的生活质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:老年;抑郁;肠易激综合征

核心提示:肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的发生过程中,精神心理因素起到了重要作用。老年人由于社会角色等关系的转换加重了精神因素对该病的作用。在治疗老年人IBS的同时应辅以精神心理疏导及抗抑郁药的使用,从而更好地治疗老年人IBS。

王晶, 王晖, 王丹. 老年人抑郁与肠易激综合征的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3899-3903 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3899.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3899>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是最常见的一种功能性肠道疾病,主要表现为腹痛或腹部不适伴有排便习惯改变。在世界范围内IBS的发病率约为10%-30%^[1],由于该病的慢性病程,不仅患者的生活质量受到了不同程度的影响,也加重了医疗费用负担^[2]。随着我国经济的发展,该病的发病率也有所增加,约为6%-7%^[3]。有研究表明,IBS患者均有不同程度的抑郁倾向^[4],其抑郁积分明显高于正常人,对应激事件耐受较低。但目前对老年IBS患者的研究

报道较少,本研究旨在探讨老年人抑郁与肠易激综合征的相关性,在临床工作中提高对老年IBS患者的认识。

1 材料和方法

1.1 材料 应用功能性胃肠病罗马III诊断和分类标准,对2010-05/2013-02华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科门诊与住院患者确诊IBS的老年组74例(60-75岁和>75岁)及中青年组74例(<60岁)进行诊断、分类。并调查其性别及体质量指数(body mass index, BMI)情况,根据患者症状进行IBS亚型分类:腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with diarrhea, IBS-D)、便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)、混合型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with mixed bowel habits, IBS-M)、未定型肠易激综合征(unsubtyped irritable bowel syndrome, IBS-U)。应用Zung抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评估老年组、中青年组的抑郁情况,根据使用IBS生活质量量表(IBM-QOL)预测不同年龄段的抑郁情况与其生活质量的相关性。

1.2 方法

1.2.1 IBS罗马III诊断标准:在最近的3 mo内每月至少有3 d具有反复发作的腹痛或腹部不适,并有下列症状中的2个或以上:(1)排便后症状改善;(2)排便频率改变;(3)粪便性状改变。在诊断前6 mo出现症状,最近3 mo症状发作符合上述诊断标准^[5]。

1.2.2 IBS亚型分类标准:(1)IBS-C:硬便或块状便占大便量 $\geq 25\%$,稀便(糊状便)或水样便占大便量 $< 25\%$;(2)IBS-D:稀便(糊状便)或水样便占大便量 $\geq 25\%$,硬便或块状便占大便量 $< 25\%$;(3)IBS-M:稀便(糊状便)或水样便占大便量 $\geq 25\%$,硬便或块状便占大便量 $\geq 25\%$;(4)IBS-U:粪便的性状不符合上述IBS-C、D、M之中的任一标准^[5,6]。

1.2.3 偏倚控制:向每一位患者详细解释填表项目,并对填表结果逐一核查控制偏倚。

1.2.4 研究工具:SDS^[7-9]由20道题组成,每题得分相加得到粗分,粗分 $\times 1.25$ 得到标准分(SDS score), ≥ 50 分诊断为抑郁。分值越高,抑郁倾向越明显。IBM-QOL^[10,11],该表由34项自我评价的条目构成,分为8个方面,即烦躁不安(Q1)、冲突行为(Q2)、身体角色(Q3)、健康忧虑(Q4)、饮食限制(Q5)、社会反应(Q6)、异性概念(Q7)和

■相关报道

近几年对IBS的研究发现,精神心理因素对该病的发生起到了重要的作用。老年人由于社会角色等关系的转换加重了精神因素的作用,且胃肠道症状与心理因素相互影响,进一步促进了该病的发生。

表 1 不同年龄、性别、BMI等人群的抑郁情况比较

指标	患者n(%)	抑郁组(n)	无抑郁组(n)
年龄(岁)			
<60	74(50)	30	44
60-75	40(27)	28	12
>75	34(23)	20	14
性别			
男	80(54)	32	48
女	68(46)	37	31
体质指数(kg/m ²)			
<18.5	40(27)	16	28
18.5-24.9	62(42)	2	37
>25	46(31)	20	26

IBS: 肠易激综合征.

表 2 不同年龄的IBS患者SDS及IBS-QOL评分(mean ± SD)

评分	<60岁	60-75岁	>75岁
SDS	50.51 ± 6.60	62.29 ± 7.34	63.72 ± 5.74
IBS-QOL	72.86 ± 11.53	64.33 ± 8.65	61.17 ± 7.90

IBS: 肠易激综合征; SDS: Zung抑郁自评量表.

表 3 各年龄组IBS亚型的例数比较(n)

IBS亚型	<60岁	60-75岁	>75岁
IBS-U	4	5	2
IBS-M	12	7	5
IBS-D	30	10	7
IBS-C	28	18	20

IBS: 肠易激综合征.

家庭关系(Q8). 每一方面得分通过转换使其值在0-100范围内, 得分(IBS-QOL score)越高生活质量越好.

统计学处理 应用统计学分析软件SPSS17.0进行数据处理, 计数资料使用例数或百分比表示, 计数资料数据比较使用 χ^2 检验. 正态分布的计量资料结果以mean ± SD记录, 组间比较采用方差分析和SNK-q检验, 两变量之间关系采用双变量回归直线分析, Pearson积差相关系数采用r表示. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 资料特点 共入组128例IBS患者, 其中中青年患者(<60岁)为74例(50%), 老年患者共74例

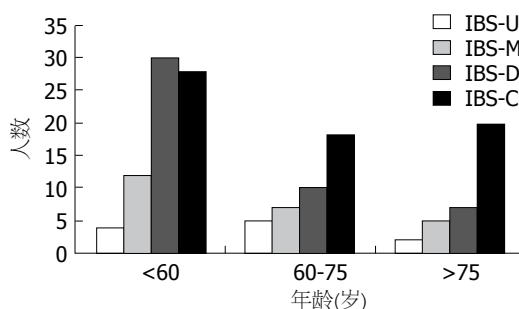


图 1 各年龄组IBS亚型的结构特点. IBS: 肠易激综合征.

(50%); 青年老年人(60-75岁)40例(27%), 老年人(>75岁)34例(23%)(表1). IBS老年患者抑郁评分(SDS评分)明显高于中青年患者($P < 0.05$), 有统计学差异, 但老年亚组无明显差异(表2). 性别构成及BMI无显著性差异.

2.2 不同年龄患者IBS亚型特点 在>75岁组中以IBS-C类型为主, 与60-75岁组和<60岁组有明显差异($P < 0.05$), 后两组IBS构成比无明显差异($P > 0.05$). 随着年龄的增长, IBS类型以IBS-C类型为主(图1, 表3).

2.3 抑郁情况与生活质量的相关性 IBS老年患者生活质量评分(IBS-QOL)明显低于中青年患者, 有统计学差异($P < 0.05$)(表2), 但老年亚组生活质量评分无显著差异. 在不同年龄段的IBS患者中, 抑郁与IBS生活质量均呈负相关($P < 0.001$)(图2).

3 讨论

IBS是临床上常见的以消化功能紊乱及腹部不适为主要表现的疾病, 由于症状持续存在、反复发作, 严重地影响了患者的生活质量. IBS的发病机制与内脏感觉异常、胃肠动力改变、自主神经功能异常、脑-肠轴异常、胃肠道感染及精神心理因素有关, 其中精神心理因素在IBS发病中的作用越来越受到重视^[12,13].

在IBS患者中, 合并有抑郁等精神心理障碍的比例明显高于非IBS患者^[14]. 患者常表现为神经质、情绪激动、不安、情感脆弱、易激和自主神经症状. 以上症状在IBS患者中往往先于或伴随肠道症状出现^[15], 提示精神心理异常在IBS发病中可能诱发或加重患者肠道症状, 加重的肠道症状又会加重患者的精神心理异常^[16]. 心理因素可能通过植物神经系统和脑-肠轴影响肠道的功能. 动物实验证明抑郁焦虑状态下结肠对扩张膨胀刺激反应明显增强, 其压力变化明显强于正常人群. 该研究还发现同时伴有脑颞叶事件相关电位变化, 提示颞叶参与脑肠轴的活

■ 创新盘点

本研究立足于老年人群的常见疾病, 评估量表选择得当, 研究方法科学、严谨, 使用统计学对各个指标进行比较、分析, 通过图表描述使得结果通俗易懂, 清晰明确, 对临床有一定的指导意义.

■应用要点

本研究精神心理因素对老年IBS患者的影响,老年人社会角色、人际关系等转变均加重IBS的症状,提示我们应积极关注老年人的精神心理状况,通过评估其抑郁倾向及程度,在治疗上辅以精神心理疏导及抗抑郁药,从而更好的治疗老年人的肠易激综合征。

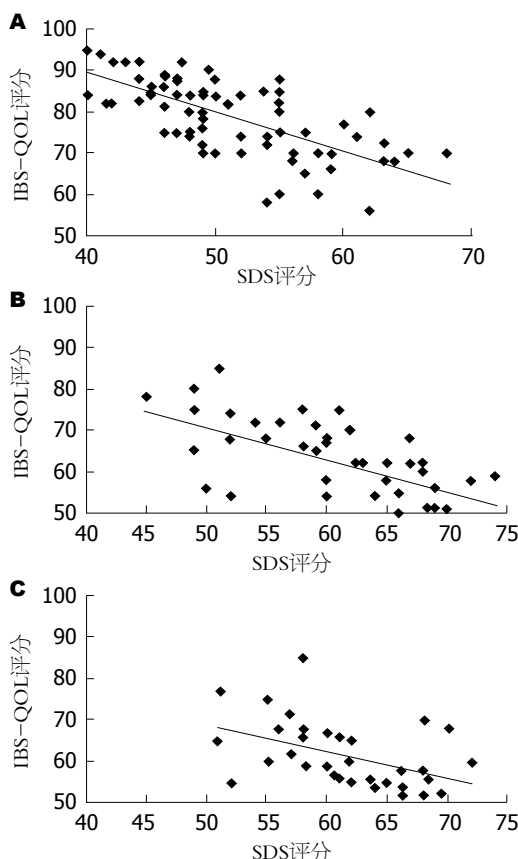


图2 SDS评分。A: <60岁, $r = -0.6781$, $P < 0.001$; B: 60-75岁, $r = -0.6481$, $P < 0.0005$; C: >75岁, $r = -0.4343$, $P < 0.0005$ 。IBS: 肠易激综合征; SDS: Zung抑郁自评量表。

动^[17,18]。多项研究证明: IBS患者内脏疼痛阈值减低是感知反应偏差所致。同样的外界刺激,患者和健康人对信号的感受有差异,反应也显著不同。有研究发现, IBS患者可把来自肠道的正常刺激信号视为异常,而表现出临床症状^[19]。

本实验研究显示: 将IBS患者按照年龄分组后, 每组抑郁评分和生活质量评分均呈负相关, 提示了抑郁对IBS患者生活质量的负性作用。这也与国内外的报道一致。

本实验还提示老年IBS患者以便秘型为主, 主要原因在于老年人消化系的特点与中青年不同: 老年人具有肠道转运时间长、餐后肠运动指数减低、直肠顺应性减低、肛门缩榨压降低等独特的肠道生理特点, 都容易导致便秘的形成^[20]。

相关的研究机制有: 衰老引起的肠道屏障破坏, 在老年实验模型中有着更高的肠道渗透性。可能与下调的紧密连接蛋白-1(zonulaoccluden1)、闭合蛋白、黏附分子-A的紧密结合蛋白, 上调的claudin-2蛋白相关^[21]。

老年人是抑郁患者的高发人群, 与其社会角

色的转化、人际关系的缺失、收入的减少、配偶的离世等相关。在衰老引起的肠道屏障破坏的前提下, 抑郁又通过自主神经功能、脑-肠轴进一步加重了胃肠道症状, 降低了患者的生活质量。

本研究提示我们在临床工作中, 对于老年IBS患者应积极关注其是否有抑郁倾向及其程度, 治疗上可以辅以精神心理疏导, 必要时予以抗抑郁药治疗。

4 参考文献

- Roberts LM, McCahon D, Holder R, Wilson S, Hobbs FD. A randomised controlled trial of a probiotic 'functional food' in the management of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 45 [PMID: 23496803 DOI: 10.1186/1471-230X-13-45]
- Kabra N, Nadkarni A. Prevalence of depression and anxiety in irritable bowel syndrome: A clinic based study from India. *Indian J Psychiatry* 2013; 55: 77-80 [PMID: 23439939 DOI: 10.4103/0019-5545.105520]
- 瞿勇, 李敏丽, 缪应雷. 肠易激综合征与精神心理因素的相关性. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1029-1034
- Cho HS, Park JM, Lim CH, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Choi MG, Chung IS, Chung YK. Anxiety, depression and quality of life in patients with irritable bowel syndrome. *Gut Liver* 2011; 5: 29-36 [PMID: 21461069 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.29]
- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561]
- 姚欣, 杨云生, 赵卡冰, 孙刚, 刘英圣, 王巍峰. 罗马Ⅲ标准研究肠易激综合征临床特点及亚型. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 563-566
- 戴晓阳. 常用心理评估量表手册. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2010: 90-135
- Glise H, Wiklund I. Health-related quality of life and gastrointestinal disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 Suppl: S72-S84 [PMID: 12000595]
- El-Serag HB. Impact of irritable bowel syndrome: prevalence and effect on health-related quality of life. *Rev Gastroenterol Disord* 2003; 3 Suppl 2: S3-11 [PMID: 12775997]
- Simrén M, Abrahamsson H, Svedlund J, Björnsson ES. Quality of life in patients with irritable bowel syndrome seen in referral centers versus primary care: the impact of gender and predominant bowel pattern. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 545-552 [PMID: 11346211]
- Müller-Lissner S, Koch G, Talley NJ, Drossman D, Rueegg P, Dunger-Baldauf C, Lefkowitz M. Subject's Global Assessment of Relief: an appropriate method to assess the impact of treatment on irritable bowel syndrome-related symptoms in clinical trials. *J Clin Epidemiol* 2003; 56: 310-316 [PMID: 12767407]
- Ruepert L, Quartero AO, de Wit NJ, van der Heijden GJ, Rubin G, Muris JW. Bulking agents, antispasmodics and antidepressants for the treatment of irritable bowel syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (8): CD003460 [PMID: 21833945 DOI: 10.1002/14651858.CD003460.pub3]

- 13 Tang YR, Yang WW, Liang ML, Xu XY, Wang MF, Lin L. Age-related symptom and life quality changes in women with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7175-7183 [PMID: 23326122 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7175]
- 14 Ladabaum U, Boyd E, Zhao WK, Mannalithara A, Sharabidze A, Singh G, Chung E, Levin TR. Diagnosis, comorbidities, and management of irritable bowel syndrome in patients in a large health maintenance organization. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 37-45 [PMID: 21871250 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.08.015]
- 15 Cruz Ruiz MA, Ortíz Herrera RB, Muñiz Jurado D, Padierna Luna JL. [Association of depression and anxiety in patients with irritable bowel syndrome]. *Rev Gastroenterol Mex* 2007; 72: 29-33 [PMID: 17685197]
- 16 许东, 方秀才, 王承党. 抗抑郁药对肠易激综合征的疗效及其机制研究进展. *中华医学杂志* 2012; 92: 3445-3447
- 17 Jerndal P, Ringström G, Agerforz P, Karpefors M, Akkermans LM, Bayati A, Simrén M. Gastrointestinal-specific anxiety: an important factor for severity of GI symptoms and quality of life in IBS. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 646-e179 [PMID: 20367800 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01493.x]
- 18 Rosenström T, Jokela M, Hintsanen M, Pulkki-Råback L, Hutri-Kähönen N, Keltikangas-Järvinen L. Longitudinal course of depressive symptoms in adulthood: linear stochastic differential equation modeling. *Psychol Med* 2013; 43: 933-944 [PMID: 22932470 DOI: 10.1017/S0033291712002000]
- 19 Masand PS, Keuthen NJ, Gupta S, Virk S, Yu-Siao B, Kaplan D. Prevalence of irritable bowel syndrome in obsessive-compulsive disorder. *CNS Spectr* 2006; 11: 21-25 [PMID: 16400252]
- 20 Wang YT, Lim HY, Tai D, Krishnamoorthy TL, Tan T, Barbier S, Thumboo J. The impact of irritable bowel syndrome on health-related quality of life: a Singapore perspective. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 104 [PMID: 22873839 DOI: 10.1186/1471-230X-12-104]
- 21 Tran L, Greenwood-Van Meerveld B. Age-associated remodeling of the intestinal epithelial barrier. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 68: 1045-1056 [PMID: 23873964 DOI: 10.1093/gerona/glt106]

■同行评价

本文方法新颖科学, 有理有据, 为老年人IBS的治疗提供了一定理论指导。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

●消息●

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗肠易激综合征

谭全会, 李兴华

■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一组以腹痛、腹泻伴有排便性状改变为主要临床症状的常见消化道疾病, 目前关于 IBS 病因和发病机制的研究仍然没有得出确定的结论, 是近年来研究的热点和难点, 由于此类疾病发病逐年增高, 病因不甚清楚, 发病机制研究困难, 治疗方面目前长期有效或治愈性药物甚少, 因此给患者的工作和生活带来严重影响, 国内外多项研究表明食物不耐受与 IBS 有某种关系, 有报道表明食物不耐受参与 IBS 的发病, 而且根据食物不耐受抗体, 限制患者饮食, 可以改善 IBS 患者的临床症状。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

谭全会, 李兴华, 江苏大学附属上海市第八人民医院 上海市 200235

谭全会, 在读研究生, 主要从事胃肠动力学研究。

作者贡献分布: 本文由谭全会撰写; 李兴华负责审校。

通讯作者: 李兴华, 200235, 上海市徐汇区漕宝路8号, 江苏大学附属上海市第八人民医院, lixinghua2002@yahoo.com.cn

电话: 021-34284588-5131

收稿日期: 2013-09-16 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Food-specific IgG antibodies directed restrictive dietary treatment of IBS

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, Shanghai 200235, China

Correspondence to: Xing-Hua Li, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, 8 Caobao Road, XuHui District, Shanghai 200235, China. lixinghua2002@yahoo.com.cn

Received: 2013-09-16 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To investigate the role of food intolerance in the pathogenesis, diagnosis and treatment of irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: One hundred and seventeen patients with IBS diagnosed according to the Rome III criteria and 50 healthy controls were enrolled from July 2011 to August 2013. Medical information was collected and disease severity score for each individual was calculated. Titres of serum IgG antibodies to 14 common foods were analyzed by ELISA. Patients underwent food elimination diets based on the results of IgG antibody analysis. The patients were followed for 12 weeks after food elimination and disease severity score was measured again.

RESULTS: All the IBS patients had higher titres of serum IgG antibodies to beans (40.17%), eggs (26.49%), or corn (16.23%), while the healthy volunteers had higher titres of serum IgG antibodies to tomato (34.00%), crab (18.00%), or milk

(14.00%). The percentages of classified patients were mild (27.6%), moderate (53.1%), and severe IBS (19.3%) before food elimination diets, and mild (49.1%), moderate, (43.9%), and severe IBS (7.0%) after food elimination diets. Food elimination diets could significantly improve disease severity score in patients with diarrhea- or constipation-predominant IBS, but had no influence in those with mixed type or non-typed disease.

CONCLUSION: Food intolerance may be one of the reasons responsible for the pathogenesis of IBS. Food elimination based on IgG antibodies may be effective in reducing disease severity score and relieving IBS symptoms.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Food intolerance; Irritable bowel syndrome; Food-specific IgG antibodies

Tan QH, Li XH. Food-specific IgG antibodies directed restrictive dietary treatment of IBS. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3904-3907 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3904.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3904>

摘要

目的: 探讨食物不耐受在肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 发病、诊断及治疗中的作用。

方法: 纳入2011-07/2013-08我院消化科门诊和病房的IBS患者117例(依据罗马标准Ⅲ), 对照组50例, 根据IBS疾病严重程度评分表对患者进行病情分级, 并对患者进行食物不耐受检测(ELISA检测), 根据检测结果, 剔除敏感食物, 12 wk后再对患者进行疾病病情评价分级, 记录结果, 并对结果进行统计学分析, 实验前后进行比较。

结果: 实验组目前排在前3位的不耐受食物为大豆, 47例, 占40.17%, 蛋类31例, 占26.49%, 玉米19例, 占16.23%, 对照组排在前3位的为西红柿17例, 占34.00%, 蟹9例, 占18.00%, 牛

奶7例, 占14.0%。117例IBS患者剔除过敏食物前, 疾病的严重度评分为轻度27.6%, 中度53.1%, 重度19.3%, 剔除过敏食物12 wk后, 轻度49.1%, 中度43.9%, 重度7.0%。剔除食物前后进行比较, 有统计学差异($P<0.01$), 剔除过敏食物12 wk后, 对腹泻性、便秘型患者有缓解病情的作用, 但是对未分型和混合型没有明显影响。

结论: 食物不耐受可能是导致IBS发病的原因之一, 根据食物特异性IgG抗体的检测, 剔除IBS患者敏感食物, 可以改善患者临床症状, 减缓患者病情。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食物不耐受; 肠易激综合征; 食物特异性IgG抗体

核心提示: 本次实验有充分的理论基础, 大量收集病例后按照实验步骤严格操作, 对实验结果进行记录分析, 得出食物对肠易激综合征的发病和诊治有一定的作用, 可以通过饮食来治疗肠易激综合征的患者。

谭全会, 李兴华. 食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗肠易激综合征. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3904–3907
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3904.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3904>

0 引言

功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是指具有慢性及反复性消化系统症状, 但缺少解剖、生化和病理学变化依据的临床症候群, 主要表现为腹痛、腹胀、恶心、早饱、呕吐、腹泻及排便困难等。国外报道本病在普通人群的患病率为34.6%, 就诊率为62.11%^[1]。其包括功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)和肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)。FGIDs是消化界近年来研究的热点和难点, 由于此类疾病发病逐年率高, 病因不甚清楚, 发病机制研究困难, 治疗方面目前长期有效或治愈性药物甚少, 因此给患者的工作和生活带来严重影响, 同时导致社会医疗费用大量浪费。目前多项研究发现食物不耐受可以诱发功能性胃肠病, 且与功能性胃肠病的诊治有密切关系^[2-5]。Atkinson等^[6-9]临床研究发现食物不耐受的确参与IBS的发病, 根据不耐受食物IgG水平检测结果, 剔除相应不耐受食物能有效改善IBS的临床症状。本次实验依据上述理论, 研究食物不耐受食物

特异性IgG抗体指导的限制性饮食在治疗IBS中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-07/2013-08本院消化科门诊及病房的IBS患者(依据罗马标准III)117例, 对照组50例, 收集患者的信息包括如下: 姓名、性别、年龄、检测日期、报告日期、开始忌食过敏食物日期、来源(门诊或病房)、联系方式、临床症状、疾病分类、ELISA检测的结果, 并根据IBS疾病严重程度评分表^[10]对患者进行病情分级, 记录结果。

1.2 方法

1.2.1 对所有入组对象进行食物不耐受检测: 采用苏州浩欧博生物医药有限公司提供的食物不耐受试剂盒, 每个患者指尖采血1 mL, 通过酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)半定量法检测血清中IgG抗体的含量, 1 h可得到结果, 所检测为最经常摄入的14种食物, 如牛奶、大米、西红柿等。食物不耐受检测结果根据IgG抗体的含量分为: 阴性(-)、轻度敏感(+), 中度敏感(++), 高度敏感(+++), 其对应的IgG抗体的浓度分别为: <50 U/L, $50-100$ U/L, $100-200$ U/L, >200 U/L。然后记录结果, 根据实验结果, 让患者忌食敏感食物, 12 wk后重新对患者进行疾病严重程度评分, 同时给患者再次食物不耐受检测, 记录结果。

统计学处理 应用统计软件SPSS19.0计量资料采用mean \pm SD检验, 采用 χ^2 检验进行率的比较, 病情程度比较采用配对样本 t 检验, $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本情况 实验组收集IBS患者117例, 其中腹泻型有48例, 便秘型有39例, 未分型的有17例, 混合型13例。117例患者中, 男78例, 平均年龄45.7岁, 女39例, 平均年龄38.7岁, 最大年龄为85岁, 最小年龄为15岁。对照组收集50例患者, 男29例, 平均年龄49.2岁, 女21例, 平均年龄37.3岁, 最大年龄79岁, 最小年龄23岁。

2.2 食物不耐受检测 对所有入组的病例进行ELISA检测, 并记录检测结果, 实验组忌食前排在前三位的不耐受食物为大豆, 47例, 占40.17%, 蛋类31例, 占26.49%, 玉米19例, 占16.23%; 对照组排在前三位的为西红柿17例, 占34.0%, 蟹9例, 占18.0%, 牛奶7例, 占14.0%(表1)。

■ 研发前沿

目前IBS的病因、发病机制、诊断方法、治疗方法等是目前医学界研究的热点和难点, 也是亟待解决的问题, 另外食物不耐受与IBS的发病、诊断和治疗到底有什么样的关系值得研究, 而且有一定的医学意义。

■ 相关报道

目前国内外关于食物不耐受与IBS的研究越来越多, 如: 有一项研究表明食物特异性抗体IgG4指导的限制性饮食可以改善IBS的症状和直肠的顺应性。王晶等一项研究表明饮食疗法可以改善IBS患者的临床症状, David的一项研究发现食用草莓、贝类、酒精等可以促进肥大细胞释放组胺及其他炎性介质, 加重IBS的症状等。

■创新盘点

本次试验研究是以前人研究的理论基础为依据,大量收集病例,严格筛选,进行食物不耐受检测,根据检测的结果,让患者禁食相关过敏食物,并进行随访3 mo, 3 mo后所有的实验者都再次进行食物不耐受检测,并记录检测结果,对两次检测结果进行统计学分析、对照,对患者的临床症状进行记录,并结合试验数据分析得出食物特异性IgG抗体的浓度和IBS患者的临床症状的严重程度有关系,得出食物不耐受可能与IBS有关系。

表 1 食物特异性抗体IgG抗体检测结果(%)

阳性率	肠易激综合征组	对照组
玉米	16.23	0
大米	1.63	0
牛奶	0.41	14
鸡蛋	26.49	0
小麦	0.91	0
大豆	40.17	0
西红柿	0.34	34
牛肉	1.73	0
鸡肉	0.51	0.57
猪肉	0	0
螃蟹	0.31	18
虾	0.12	0.61
鱼	0	1.74
蘑菇	0.43	0

表 2 剔除过敏食物12 wk前后疾病严重程度评分比较 (mean ± SD)

类型	n	剔除过敏食物前	剔除过敏食物后
便秘型	39	209.51 ± 64.91	172.13 ± 65.82 ^b
腹泻型	48	203.54 ± 63.12	160.98 ± 55.87 ^b
混合型	13	158.43 ± 44.56	143.12 ± 63.37 ^a
未分型	17	198.71 ± 64.13	138.98 ± 58.90 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 剔除过敏食物前。

2.3 疾病病情的分级 117例IBS患者剔除过敏食物前疾病的严重程度评分为轻度27.6%, 中度53.1%, 重度19.3%; 剔除过敏食物12 wk后, 轻度49.1%, 中度43.9%, 重度7.0%。剔除食物前后进行比较, 有统计学差异($P < 0.01$)(表2), IBS患者的临床症状明显好转, 特别是腹痛症状、其次为腹泻、再次为消化不良。

3 讨论

IBS是一组表现为腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 其发病机制目前还不清楚, 诊断为排他性诊断, 治疗手段多为经验性治疗, 有研究表明约33%-66%的IBS是食物不耐受导致的^[11-13]。多年来, 许多医学工作者们怀疑食物不耐受可能与IBS有某种程度的关系。其实, 欧洲^[14]的研究已经证实食入特定的食物或食物添加剂后可引起IBS, 因为IBS患者的症状会因为饮食而加重, 所以患者会不会因为饮食加重疾病的进程? 患者该如何合理饮食才能减轻或治愈IBS? 近年来的研究发现, 饮食习惯不良和膳食结构不合理可以加剧IBS患者的临床症状, 研究表明约80%的IBS患者对一种或几种食物有不耐受反应, 因此, 医学家和营养学家认为, 合理、健康的饮食结构可有助于减轻IBS患者的腹痛、腹泻等胃肠功能紊乱症状。对引起IBS患者一系列症状的饮食因素进行探索, 对IBS患者的饮食进行调整应成为诊治IBS一个重要的方面。多年来的研究发现, 一些IBS患者进食某些或某种食物后可以诱发或加重其临床症状, 尽管有很多关于IBS患者饮食指导的文献, 但是

对IBS患者给出饮食建议还是有一定的困难, 高蛋白饮食容易导致患者腹泻, 进食纤维过多或过少可能引起胃肠功能紊乱, 流行病学研究证实, IBS患者腹部受凉或食用生冷食物后腹痛和腹部不适的症状加重, 李延青等^[15]发现, 肠道内受到冷刺激可以导致IBS患者内脏感觉超常, 印度的一项研究发现, 刺激性食物可以使IBS患者的内脏感觉阈值下降, 从而加剧患者的症状。因此, IBS患者应该忌食生、冷、辛、辣食物。多数IBS患者进食脂肪食物后腹泻加重。Dainese等^[16]发现在进高脂肪等高热量食物后, 实验组同时给予胰酶微胶囊制剂, 较给予安慰剂的对照组消化道症状明显改善。因此, 我们推测脂类消化吸收不全可能会导致IBS临床症状的加重, 近年来酒精对胃肠道的影响引起了医学界的重视, 研究表明, 酒精中毒可以使肠道通透性增加。

近年来一些西方变态反应研究的人士主张采用轮回饮食疗法^[17], 即建议患者除去致敏食物后设计一组食谱, 要求患者在5-7 d轮回食用1遍。经过一段时间的轮回, 可以起到预防新的食物不耐受, 也可使原已致敏的食物, 禁食期间因为体内的特异性致敏抗体降解消失, 以达消除过敏的目的。虽然食物过敏在临床上表现各不相同, 但其共同特征是肠通透性增加, 即肠道收到了一定的损害, 导致原本无法吸收的其他大分子物质的吸收也增加, 从而导致多种食物过敏的发生, 形成恶性循环^[18]。因此, 在治疗食物过敏的同时还应注意保护胃肠黏膜功能, 尽量早发现肠道屏障功能的损害, 并予以及时相应治疗, 可能对减少食物过敏肠外症状以及其他种类食物过敏的发生有一定帮助。

研究发现在IBS患者的血液中检测到某些食物IgG抗体浓度会明显升高。根据上述现象Atkinson等^[6]设计了一个实验, 该实验依据食物特异性IgG抗体来剔除某种不耐受食物, 观察IBS患者的治疗效果, 发现IBS患者的症状有了

■应用要点

本次研究发现食物不耐受与IBS有关系, 通过食物特异性IgG抗体的检测结果对患者进行过敏食物禁食3 mo, 患者的临床症状得到了一定程度的改善, 特别是腹泻和便秘患者。根据本次实验研究结论, 我们可以在临床上通过饮食干预治疗法来治疗IBS患者, 还可以根据实验的结论进一步研究食物如何对IBS患者产生影响。

显著的改善, 患者的疼痛程度得到了明显的改善($P<0.001$), 疼痛次数减少($P=0.034$), 腹胀程度减轻($P<0.001$). 但是对照组效果不明显. 国外一研究显示, IBS患者, 根据食物特异性IgG4指导的限制性饮食, 可以明显改善症状, 患者的直肠的顺应性也得到了明显的改善^[9], 我们认为根据食物特异性IgG抗体指导的饮食疗法来治疗IBS是有一定意义的, 但也有学者对此持怀疑的态度^[19], 值得更进一步的研究, 为了进一步探讨饮食疗法治疗IBS的效果, 我们进行了本次实验研究.

本次实验试图探讨饮食对IBS疾病的影响, 根据国内外学者的研究成果为理论依据, 收集了117例IBS患者, 对患者进行分类, 其中腹泻型有48例, 便秘型有39例, 未分型的有17例, 混合型13例. 对患者进行疾病程度评估, 对患者敏感(包括轻、中和重度敏感)的食物进行忌食12 wk, 然后再让患者进行食物不耐受ELISA检测, 再次对患者的疾病程度进行评分. 12 wk前后对比结果有统计学意义($P<0.01$), 患者的临床症状得到明显改善, 特别是腹泻和便秘患者. 12 wk后患者的症状仍在持续改善, 表明根据食物特异性IgG抗体指导的食物剔除疗法可以明显改善IBS患者的临床症状, 减轻患者病情. 但是食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗IBS仍处于探索研究阶段, 需要更大样本的临床研究来证实.

4 参考文献

- 1 Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75: 1169-1178 [PMID: 7505205 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
- 2 张国军, 吕虹, 周亚莉, 方芳, 王雅杰, 康熙雄. 食物不耐受检测临床意义的探讨. *现代检验医学杂志* 2008; 23: 87-88
- 3 张旭东, 邓敏, 李梅. 食物不耐受与腹泻型肠易激综合征的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3877-3879
- 4 Cremonini F, Talley NJ. Diagnostic and therapeutic strategies in the irritable bowel syndrome. *Minerva Med* 2004; 95: 427-441 [PMID: 15467518]
- 5 King TS, Elia M, Hunter JO. Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 1998; 352: 1187-1189 [PMID: 9777836 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)02146-1]
- 6 Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 1459-1464 [PMID: 15361495 DOI: 10.1136/gut.2003.037697]
- 7 吕晶, 王怡. 饮食指导对肠易激综合征中食物不耐受的影响84例分析. *中国误诊学杂志* 2007; 11: 6624-6625
- 8 Whorwell P, Lea R. Dietary Treatment of the Irritable Bowel Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 307-316 [PMID: 15238206 DOI: 10.1007/s11938-004-0017-1]
- 9 Zar S, Mincher L, Benson MJ, Kumar D. Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 800-807 [PMID: 16109655 DOI: 10.1080/00365520510015593]
- 10 Francis CY, Morris J, Whorwell PJ. The irritable bowel severity scoring system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 395-402 [PMID: 9146781 DOI: 10.1046/j.1365-2036.1997.142318000.x]
- 11 孙自勤, 刘晓峰. 肠道病学. 济南: 山东科学技术出版社, 2005: 921-922
- 12 梁爱萍, 常青峰, 贾文建. 益生菌治疗肠易激综合征临床分析. *中国误诊学杂志* 2006; 6: 4759
- 13 钟承彪, 万蝶云. 综合治疗肠易激综合征106例临床观察. *中国全科学* 2003; 6: 504
- 14 Alternative approach to IBS and migraine is winning over providers. *Dis Manag Advis* 2004; 10: 6-10, 1 [PMID: 15007999]
- 15 李延青, 郭玉婷, 左秀丽, 郭宾, 张海燕, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征内脏感觉过敏动物模型的建立. *胃肠病学和肝病学杂志* 2003; 12: 332-335
- 16 Dainese R, Galliani EA, De Lazzari F, Di Leo V, Naccarato R. Discrepancies between reported food intolerance and sensitization test findings in irritable bowel syndrome patients. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1892-1897 [PMID: 10406255]
- 17 叶世泰. 食物变态反应. *中华消化杂志* 1995; 15: 255-285
- 18 陈虹, 陈奋华, 李银涛, 李银涛, 纪经智, 何政贤, 王清文, 饭仓洋治. 食物过敏后肠道通透性的研究. *免疫学杂志* 2003; 19: 140-143
- 19 Hunter JO. Food elimination in IBS: the case for IgG testing remains doubtful. *Gut* 2005; 54: 1203; author reply 1203 [PMID: 16009694]

■同行评价

本文立题有充分的理论依据, 病例选择规范, 研究方法较先进, 结果可信, 对IBS临床诊疗有参考意义, 为治疗IBS提出了一种新的方法, 为以后对IBS病因、发病机制、诊断、治疗等方面的研究提供了一种新的思路.

编辑 田滢 电编 闫晋利



美沙拉嗪灌肠液联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎的疗效

刘玲, 钱睿, 周永宁

■背景资料

近年来我国溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病率逐年增加, 且每年有近 1/4 的患者会出现病情反复。因此, 采取有效的方法尽快控制病情并维持长期缓解、降低复发率, 成为临床医生关注的焦点。

刘玲, 钱睿, 周永宁, 兰州大学第一医院消化内科 甘肃省兰州市 730000

刘玲, 硕士, 主要从事炎症性肠病、肝病的临床治疗。

作者贡献分布: 本课题由周永宁与刘玲设计; 数据分析由刘玲与钱睿完成; 研究过程由刘玲、钱睿及周永宁共同完成; 本论文写作由周永宁指导刘玲完成。

通讯作者: 周永宁, 教授, 730000, 甘肃省兰州市城关区东岗西路, 兰州大学第一医院消化内科。yongningzhou@sina.com

电话: 0931-8625200

收稿日期: 2013-07-16 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Clinical efficacy of mesalazine enema combined with triple live bacterial agent of *Clostridium butyricum*, *Streptococcus faecalis* and *Bacillus mesentericus* in patients with mild to moderate distal ulcerative colitis

Ling Liu, Rui Qian, Yong-Ning Zhou

Ling Liu, Rui Qian, Yong-Ning Zhou, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Yong-Ning Zhou, Professor, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Lanzhou University, Donggang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. yongningzhou@sina.com

Received: 2013-07-16 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of mesalazine enema combined with triple live bacterial agent of *Clostridium butyricum*, *Streptococcus faecalis* and *Bacillus mesentericus* in patients with mild to moderate distal ulcerative colitis (UC).

METHODS: Forty-six patients with active mild to moderate distal UC were randomly divided into either a mesalazine group (control group, $n = 23$) or a combination group (trial group, $n = 23$). Patients in the mesalazine group were treated with mesalazine enema, and on the basis of this, the patients in the combination group were additionally given triple live bacterial agent of

Clostridium butyricum, *Streptococcus faecalis* and *Bacillus mesentericus*. The course of treatment was four weeks. Disease activity index (DAI), endoscopic score, response rate, histopathological changes, and adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS: DAI decreased from 7.72 ± 0.66 to 2.84 ± 2.35 in the trial group and from 7.17 ± 0.94 to 3.41 ± 2.58 in the control group, and the decrease was statistically significant between the two groups ($t = 2.340$, $P = 0.018$). The endoscopic score decreased from 3.20 ± 0.82 to 1.80 ± 0.90 in the trial group and from 3.10 ± 0.72 to 2.50 ± 0.86 in the control group, and the decrease was statistically significant between the two groups ($t = 2.051$, $P = 0.040$). The response rate was significantly higher in the trial group than in the control group (91.30% vs 65.22% , $\chi^2 = 4.608$, $P = 0.036$). The histopathological changes showed no significant difference between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Combined therapy with mesalazine and triple live bacterial agent can effectively alleviate clinical symptoms and colonoscopic manifestations in patients with mild to moderate distal UC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mesalazine enema; Triple live bacterial agent; *Clostridium butyricum*; *Streptococcus faecalis*; *Bacillus mesentericus*; Ulcerative colitis

Liu L, Qian R, Zhou YN. Clinical efficacy of mesalazine enema combined with triple live bacterial agent of *Clostridium butyricum*, *Streptococcus faecalis* and *Bacillus mesentericus* in patients with mild to moderate distal ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3908-3913 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3908.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3908>

摘要

目的: 观察美沙拉嗪灌肠液及其联合酪酸梭

■同行评议者

廖应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的疗效。

方法: 将46例轻中度活动期远端UC患者随机分为美沙拉嗪组(对照组)及联合用药组(实验组), 每组各23例, 美沙拉嗪组予以美沙拉嗪灌肠液保留灌肠, 联合用药组在上述用药的基础上加用酪酸梭菌肠球菌三联活菌片, 疗程均为4 wk。比较两组患者疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结肠镜评分、病理组织学评分、总有效率等指标的变化, 并记录不良反应。

结果: 实验组DAI疾病活动指数评分由 7.72 ± 0.66 降至 2.84 ± 2.35 , 对照组由 7.17 ± 0.94 降至 3.41 ± 2.58 , 下降幅度差异有统计学意义($t = 2.340, P = 0.018$)。实验组结肠镜积分由 3.20 ± 0.82 降至 1.80 ± 0.90 , 对照组由 3.10 ± 0.72 降至 2.50 ± 0.86 , 下降幅度差异有统计学意义($t = 2.051, P = 0.040$)。实验组总有效率(91.30%)高于对照组(65.22%), 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.608, P = 0.036$)。两组患者病理组织学变化无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: 美沙拉嗪灌肠液联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎可更有效地改善患者临床症状及肠镜下黏膜表现, 酪酸梭菌肠球菌三联活菌片可辅助治疗UC。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 美沙拉嗪灌肠液; 酪酸梭菌肠球菌三联活菌片; 溃疡性结肠炎; 联合用药

核心提示: 本文基于临床实践, 通过Sutherland疾病活动指数及肠镜黏膜表现评分, 对酪酸梭菌肠球菌三联活菌片联合美沙拉嗪灌肠液治疗轻中度远端溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的疗效进行了全面评价, 以期探讨治疗UC的新方法。

刘玲, 钱睿, 周永宁. 美沙拉嗪灌肠液联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3908–3913 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3908.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3908>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病变多位于直肠和结肠的慢性非特异性炎症性疾病, 主要累及结肠黏膜及黏膜下层。其病因及发病机制目前尚未完全明确, 流行病学研究表明

遗传因素、环境因素、免疫调节紊乱、肠道菌群紊乱等多种因素与其发病密切相关^[1]。血性腹泻、黏液脓血便和腹痛是其常见临床表现, 关节、皮肤、眼、口及肝胆等肠外器官及组织亦可累及。UC的发病高峰年龄为20–49岁, 儿童及老年患者较少见, 男女发病率无显著差异。近年来我国UC的病例数逐年增加, 且每年有近1/4的患者会出现病情反复。因此, 早期诊断及治疗具有重要意义。目前氨基水杨酸制剂在轻中度UC的诱导与缓解治疗中占主导地位, 柳氮磺吡啶(salazosulapyridine, SASP)因存在较多的不良反应, 已逐渐被5-氨基水杨酸制剂(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)所替代, 5-ASA类制剂是通过药物与病变肠段作全覆盖式接触而发挥治疗作用的, 其剂型和药物释放机制全面、使用方便^[2]。远端UC(包括乙状结肠炎、直肠炎^[3]), 病变范围较为局限, 临床上常选择局部用药(栓剂或灌肠剂)或全身治疗(口服制剂), 局部治疗药物可直接覆盖于病变部位, 浓度较高, 能最大限度改善局部的肠黏膜微循环, 加快损伤组织愈合且全身反应轻, 已逐渐被人们所认可。随着对肠道菌群在UC发病中作用的认知, 近年来微生态制剂在UC治疗中的作用受到广泛关注^[4]。酪酸梭菌肠球菌三联活菌片是目前临床最常用的益生菌之一, 是由酪酸梭菌、肠球菌和糖化菌组成的三联活菌制剂。酪酸梭菌是新一代芽孢类微生态制剂, 有着非芽孢类微生态制剂难以比拟的优点, 如: 对胃酸、胆汁酸有更好的耐受性, 可较长时间常温保存, 直接补充肠道营养物质, 携带和服用也很方便等。本研究联用酪酸梭菌肠球菌三联活菌片与美沙拉嗪灌肠液治疗轻中度远端UC, 并与单用美沙拉嗪灌肠液比较, 通过比较两组患者用药前后DAI积分、结肠镜评分、总有效率、病理组织学积分等指标的变化, 比较二者疗效差异, 以期UC的治疗提供新的方法。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2013-01就诊于兰州大学第一医院消化科的初发型、慢性复发型的轻中度活动期远端UC患者46例及其完整临床资料。其中, 男25例, 女21例, 年龄20–65岁, 主要表现为腹泻、黏液脓血便、腹痛、里急后重, 部分患者有肠外表现。UC的诊断遵从2007-05中华消化病学术会议上通过的《我国炎症性肠病诊治规范共识意见》^[5]。所有患者在治疗前1 mo未使用过皮质激素及免疫抑制剂, 并排除

■ 研发前沿

目前微生态制剂辅助治疗UC有望成为维持UC缓解的新方法, 但使用何种微生态制剂, 何时开始使用、疗程、安全性等问题亟待解决。

■相关报道

大量研究发现UC患者肠道内双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌菌群较健康人群明显减少,而肠杆菌及厌氧菌较正常人群有所增加,此为微生态制剂治疗UC提供了理论依据。

表 1 Sutherland疾病活动指数评分标准

项目	0分	1分	2分	3分
腹泻频率	正常	超过正常1-2次/d	超过正常3-4次/d	超过正常>5次/d
直肠出血	无	少许	明显	大便以血为主
黏膜表现	正常	轻度易脆	中度易脆	重度易脆伴渗出
医师评估病情	正常	轻	中	重

将DAI各项分数相加, 所得数据 ≤ 2 分为症状缓解, 3-5分为轻度活动, 6-10分为中度活动, 11-12分为重度活动。

表 2 Azzolini内镜下溃疡性结肠炎活动度评分标准

项目	0分	1分	2分	3分
肠段黏膜病变	无	充血水肿	糜烂	溃疡
黏膜脆性	正常黏膜	触之出血	自发出血	

将以上各项分数相加, 所得数据0-4分为轻度活动; 5-9分为中度活动; 10分或以上为重度活动。

以下患者: (1)重度UC、慢性细菌性痢疾、阿米巴痢疾、慢性血吸虫病、肠结核、结肠克罗恩病、缺血性结肠炎、放射性结肠者; (2)合并严重心、肝、肾、血液、内分泌系统等疾病、精神病者; (3)孕妇、哺乳期妇女、对水杨酸制剂过敏者; (4)有胃肠道手术史者。另外, 依从性差的患者及影响疗效判断者均不列入研究对象。根据随机对照原则将46例患者均分为实验组和对照组, 每组23例。两组患者在年龄、性别构成比、发病部位、病情、病程等方面均无统计学差异($P>0.05$), 具有可比性。实验组23例患者中男14例, 女9例, 年龄21-65岁, 平均35.6岁 ± 14.2 岁, 轻度8例, 中度15例; 对照组23例患者中男11例, 女12例, 年龄20-63岁, 平均34.5岁 ± 14.4 岁, 轻度13例, 中度10例。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组: 美沙拉嗪灌肠液(莎尔福灌肠液, 德国霍克大药厂)4 g/60 mL, 1次/d, 睡前保留灌肠; 实验组在上述治疗基础上加用酪酸梭菌肠球菌三联活菌片(适怡, 日本东亚药品工业株式会社)400 mg/次, 3次/d; 疗程均为4 wk。所有患者在用药期间避免使用其他美沙拉嗪制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂、抗生素、止泻药等。治疗期间均进食高热量、高蛋白质、易消化的食物, 避免刺激性及粗纤维性食物, 少食多餐, 补充维生素制剂。治疗前、后随访观察血常规、尿常规、大便常规、肝肾功能等以及疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结肠镜

检查、有效率、病变部位病理检查等。

1.2.2 观察指标及疗效评定: (1)UC的Sutherland DAI变化: 按照参考文献[6]的方法进行Sutherland疾病活动指数评分, 评分标准如表1; (2)肠镜检查分级变化: 治疗前及治疗结束后2 wk内行肠镜检查, 并根据Azzolini内镜下UC活动度分级标准来记录积分^[7]: 肠段分为直肠、乙状结肠、降结肠、横结肠、升结肠、回盲部, 评分标准如表2。将以上各项分数相加, 所得数据0-4分为轻度活动; 5-9分为中度活动; 10分或以上为重度活动; (3)病理组织学变化: 治疗前及治疗结束后2 wk内肠镜下于病变最明显处做病理组织学检查, 结果按病理组织学分级标准评分^[8]: 0分: 黏膜固有层无中性白细胞浸润; 1分: 黏膜固有层有少量中性白细胞(<10 个/HPF)浸润, 累及少量隐窝; 2分: 黏膜固有层有明显中性白细胞($10-50$ 个/HPF)浸润, 累及50%以上隐窝; 3分: 固有层有大量中性白细胞(>50 个/HPF)浸润, 伴隐窝脓肿; 4分: 固有层明显急性炎症伴溃疡形成; (4)临床疗效评定: 疗效判定标准: UC疗效标准参照中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组制定标准^[5], 具体如下: 完全缓解(显效): 临床症状消失, 结肠镜复查见黏膜大致正常; 有效: 临床症状基本消失, 结肠镜复查见黏膜轻度炎症或假息肉形成; 无效: 经治疗后临床症状、内镜及病理检查结果均无改善; (5)不良反应评估: 记录整个治疗过程中患者出现的任何不良反应症状及肝肾功能、血液系统损害等不良反应; 并描述以下

表 3 两组患者治疗前后疾病活动指数积分、肠镜积分、病理组织学积分变化比较 ($n = 23$, mean \pm SD)

分组	疾病活动指数积分	肠镜积分	病理组织学积分
实验组			
治疗前	7.72 \pm 0.66 ^a	3.20 \pm 0.82 ^c	3.40 \pm 0.84
治疗后	2.84 \pm 2.35 ^{ab}	1.80 \pm 0.90 ^{cd}	3.05 \pm 0.84
对照组			
治疗前	7.17 \pm 0.94 ^a	3.10 \pm 0.72	3.40 \pm 0.89
治疗后	3.41 \pm 2.58	2.50 \pm 0.86	3.10 \pm 0.87

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$, ^d $P < 0.01$ vs 治疗后。

表 4 治疗4 wk后两组总有效率比较 ($n = 23$)

分组	显效	有效	无效	总有效率(%)
实验组	15	6	2	91.30 ^a
对照组	10	5	8	65.22

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

特征: 类型、发生时间、频率、持续时间、严重程度。

统计学处理 采用SPSS17.0分析软件包进行统计学处理, 计量资料用mean \pm SD表示, 每组治疗前后及两组间的比较均采用 t 检验, 计数资料用率表示, 率的比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后DAI变化情况 两组治疗前后DAI均数均较前明显下降, 比较均有统计学意义; 治疗后实验组DAI均数低于对照组, 比较有统计学意义(表3)。

2.2 两组患者治疗前后肠镜分级积分变化情况 实验组治疗后肠镜分级积分均数明显低于治疗前, 差异有统计学意义; 对照组治疗前、后肠镜分级积分变化不明显, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后实验组肠镜分级积分均数低于对照组, 比较有统计学意义(表3)。

2.3 两组患者治疗前后病理组织学变化情况 两组治疗前后病理组织学分级变化不明显, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.4 两组患者临床疗效比较 实验组显效15例, 有效6例, 无效2例, 总有效率91.30%; 对照组显效10例, 有效5例, 无效8例, 总有效率65.22%; 两组总有效率差异有统计学意义(表4)。

2.5 不良反应 治疗期间, 两组患者不良反应发生情况分析; 实验组: 恶心1例, 腹胀1例, 不良反应

率为(8.69%); 对照组发生恶心1例, 腹胀1例, 食欲下降1例, 不良反应率为(13.04%); 继续服药后上述轻微不适均自行减轻或消失, 不影响继续治疗, 其余患者无明显不良反应, 两组患者均未出现肝肾功能、血液系统损害, 两组不良反应的发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

UC的本质是一种肠道的慢性非特异性炎症, 其治疗主要是应用抑制炎症反应的药物(如5-ASA)、糖皮质激素、免疫抑制剂或者生物制品。美沙拉嗪是临床常用的一种5-ASA制剂, 其主要药理机制是通过直接抑制结肠过氧化物酶以及白三烯、前列腺素等炎症介质的合成和释放, 降低肠道黏膜的通透性、减轻黏膜水肿, 产生抗炎作用; 还可以抑制血小板活化因子的活性、结肠黏膜脂肪酸氧化, 降低肠道黏膜的损伤及刺激, 从而发挥治疗UC的作用, 不良反应少^[9], 对轻中度活动期UC的诱导及维持缓解疗效肯定。对于远端UC, 由于局部治疗药物浓度较高、损伤组织愈合快且全身反应轻, 目前在临床已逐渐形成共识。霍丽娟等^[10]对美沙拉嗪灌肠液治疗轻、中度活动期远端UC疗效进行观察, 结果提示灌肠液的疗效明显优于口服制剂, 且具有安全性高、症状缓解快的优势。

近年来研究发现肠道菌群失调与UC的发生、发展密切相关^[11], 大量的动物实验亦表明益生菌减少、致病菌增多触发并促进了肠道的炎症反应。因而微生态制剂在溃疡性结肠炎中的作用日益受到重视^[12]。益生菌治疗UC的作用机制可能在于不被胃酸和肠道内各种消化酶破坏、可黏附并定植于肠道黏膜表面、在肠道内能充分地生长繁殖, 从而调节肠道菌群处于动态平衡^[13]。其主要机制^[14,15]如下: (1)保持肠道内菌群处于动态平衡之中: 临床常用的益生菌有

■创新盘点

肠道菌群紊乱在UC发病方面所扮演的角色及微生态制剂辅助治疗UC是该病研究的热点, 本文就微生态制剂治疗UC进行相关临床研究。

■应用要点

本研究联用美沙拉嗪灌肠液及酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度溃疡性结肠炎,取得了较好的疗效,为临床医师治疗UC提供了一种新方法;亦证实了益生菌治疗UC有很好的应用前景。

酪酸梭菌、双歧杆菌、肠球菌等活菌制剂,这些益生菌在肠道内生长、繁殖可以增加肠道内有益菌的数量,抑制有害菌的过度生长,从而使肠道菌群达到动态平衡;(2)增强肠道黏膜生物屏障和化学屏障^[16]:通过黏附于肠黏膜表面,与肠上皮细胞有机结合在一起,形成肠道黏膜生物屏障,还可促进上皮细胞分泌黏液,使其在肠黏膜和细菌之间形成防护层,阻止有害菌的定植和入侵,并通过阻止其黏附肠壁、易位或产生抗菌物质来抑制病原菌;同时益生菌在肠道内代谢产生的乳酸、乙酸等酸性物质,构成强大的化学屏障,在一定程度上可抑制肠道内病原菌的生长繁殖;(3)生物拮抗作用:通过抢占上皮细胞间有限的生理空间以及与致病菌竞争有限的上皮细胞表面的特殊结合位点来抑制细菌黏附、转位,从而抑制病原菌的生长繁殖,以维持肠道菌群平衡,并且可产生多种生物表面活性物质,直接或间接杀灭致病菌,还可产生酪酸等营养肠道的物质^[17];(4)增强肠黏膜免疫功能,提高免疫力:益生菌能够直接刺激机体免疫器官的发育,提高肠道内巨噬细胞对致病菌的吞噬能力,使肠黏膜sIgA分泌增加,从而提高肠黏膜免疫功能。

目前研究的表明酪酸梭菌肠球菌三联活菌片可能是通过以下途径治疗UC的^[18,19]:调整和补充正常菌,促进双歧杆菌、乳酸杆菌等肠道有益菌群的增殖和发育,抑制有害菌和腐败菌的生长、繁殖,使肠道菌群达到动态平衡,形成强大的肠道生物屏障;产生酪酸和醋酸,促进肠道上皮组织细胞的再生和修复并可构成有力的化学屏障;提高机体的免疫功能,增强肠道黏膜免疫屏障,减少肠毒素的产生;合成机体所需的消化酶和维生素,有利于肠道黏膜营养代谢。

本研究通过使用Sutherland疾病活动指数及肠镜黏膜表现评分来评价联合应用美沙拉嗪灌肠液及酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端UC的效果,结果显示两组的总有效率差异有统计学意义。提示对于轻中度UC患者,在应用5-ASA制剂的基础上联用益生菌制剂可更好地改善UC患者临床症状和镜下结肠黏膜表现。但对于其病理组织学无显著改观,可能与观察时间较短有关。

总之,酪酸梭菌肠球菌三联活菌片可通过调节肠道菌群、修复肠道黏膜、抑制黏膜免疫反应等途径辅助治疗UC。益生菌制剂辅助治疗

可作为控制UC病情的一种新方法,应用于临床的前景充满希望,但同时也存在着许多亟待解决的问题。选择何种益生菌制剂、益生菌的剂量、疗程、安全性等,有待于进一步的观察。针对益生菌治疗UC还缺乏大样本、随机、双盲对照的临床试验,应进一步开展临床和基础研究以明确最有效的益生菌株及其剂量、应用时间,为今后UC的治疗提供坚实的理论基础。

4 参考文献

- 1 白爱平, 欧阳钦, 吕农华. 炎症性肠病发病机制的新观点. 中华消化杂志 2010; 30: 210-212
- 2 钟捷. 溃疡性结肠炎治疗中需要关注的若干临床问题. 内科理论与实践 2013; 21: 12-14
- 3 Carter MJ, LAJ, Travis SP, 杨川华, 刘文忠. 成人炎症性肠病处理指南. 胃肠病学 2005; 10: 57-61
- 4 Wang XM, Lu Y, Wu LY, Yu SG, Zhao BX, Hu HY, Wu HG, Bao CH, Liu HR, Wang JH, Yao Y, Hua XG, Guo HY, Shen LR. Moxibustion inhibits interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha and modulates intestinal flora in rat with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6819-6828 [PMID: 23239920 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6819]
- 5 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组, 欧阳钦, 胡品津, 钱家鸣, 郑家驹, 胡仁伟. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). 中华消化杂志 2007; 08: 545-550
- 6 欧阳钦, Tandon R, Goh KL. 亚太地区炎症性肠病处理共识意见(二). 胃肠病学 2006; 11: 301-305
- 7 Azzolini F, Pagnini C, Camellini L, Scarselli A, Merighi A, Primerano AM, Bertani A, Antonioli A, Manenti F, Rigo GP. Proposal of a new clinical index predictive of endoscopic severity in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 246-251 [PMID: 15745080]
- 8 谭琰, 邹开芳, 杨天, 陈胜, 侯晓华, 潘庆华. 微生态制剂对溃疡性结肠炎患者治疗前后临床疗效观察. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 77-81
- 9 Watanabe M, Nishino H, Sameshima Y, Ota A, Nakamura S, Hibi T. Randomised clinical trial: evaluation of the efficacy of mesalazine (mesalamine) suppositories in patients with ulcerative colitis and active rectal inflammation -- a placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 264-273 [PMID: 23734840 DOI: 10.1111/apt.12362]
- 10 刘淑艳, 霍丽娟. 美沙拉嗪灌肠液治疗轻中度远段溃疡性结肠炎的疗效观察. 当代医学 2012; 18: 25-27
- 11 牛敏, 杜艳, 廖应雷. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群分布的研究现状. 微生物学免疫学进展 2012; 40: 68-72
- 12 Lee KH, Choi CH. [The effect of probiotics in ulcerative colitis]. *Korean J Gastroenterol* 2012; 60: 67-70 [PMID: 23094275 DOI: 10.1189416]
- 13 Li K, Zhang CF, Xia YH, Li ZJ, Han Y. [Efficacy of probiotics on ulcerative colitis and its mechanism]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2013; 16: 336-339 [PMID: 23608794 DOI: 10.0001882012]
- 14 李琨, 张彩凤, 夏永华, 李贞娟, 韩宇. 微生态制剂对溃疡性结肠炎的治疗效果及作用机制研究. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 336-339
- 15 叶丽敏, 黄国美, 白班俊, 李岚. 美沙拉嗪联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗活动期溃疡性结肠炎疗效观察. 中国医疗前沿 2013; 8: 23-24
- 16 Sung MK, Park MY. Nutritional modulators of ulcerative colitis: clinical efficacies and mechanistic

- view. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 994-1004 [PMID: 23467687 DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.994]
- 17 韩英. 益生菌治疗炎症性肠病的作用机制研究进展. *中华内科杂志* 2007; 46: 76-77
- 18 李碧云, 傅思武, 王金丰. 酪酸梭菌的研究进展. *中国微生态学杂志* 2013; 25: 112-114
- 19 熊祖明, 袁杰利. 酪酸梭菌的研究与应用进展. *中国微生态学杂志* 2011; 23: 1143-1145

■同行评价

本文对于探讨溃疡性结肠炎的辅助治疗方法具有一定的价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P<0.05$, ² $P<0.01$; 第3套为³ $P<0.05$, ⁴ $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

寒冷气候对南昌地区消化性溃疡及其合并上消化道出血的影响与预防策略

殷冬林, 王健

■背景资料

气候是构成人类环境的要素之一, 对许多疾病的发生发展都有直接或间接的影响, 我们前期研究结果显示, 气温低的冬春季节消化性溃疡合并出血明显增多, 住院病例数与月平均气温及人体舒适度指数均呈负相关, 与气候变化的剧烈程度呈正相关。2007年冬天开始的雪灾气候给人类带来了重大的灾害, 江西是这场冰雪灾害的重灾区之一。许多疾病的发作明显增加, 住院患者急剧增多。因此, 从医疗卫生角度而言, 加强灾害性气候中易感疾病的防治研究, 保护人民群众的身体健康, 是亟待研究的重要课题。

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

殷冬林, 九江中医医院肝病科 江西省九江市 332000

王健, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330046

殷冬林, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 殷冬林与王健对此文所作贡献均等; 此课题由殷冬林与王健设计; 研究过程由殷冬林与王健操作完成; 研究所用药物器械及分析工具由王健提供; 数据分析由殷冬林与王健完成; 本论文写作由殷冬林与王健完成。

通讯作者: 王健, 副教授, 330046, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化科。

limin20060402@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-08

Impact of cold weather on peptic ulcer and upper gastrointestinal bleeding and preventive strategies

Dong-Lin Yin, Jian Wang

Dong-Lin Yin, Department of Hepatology, Jiujiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Jian Wang, Department of Internal Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330046, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Jian Wang, Associate Professor, Department of Internal Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Donghu District, Nanchang 330046, Jiangxi Province, China. limin20060402@yahoo.com.cn

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-08

Abstract

AIM: To investigate the influence of different intervention methods on peptic ulcer and upper gastrointestinal bleeding in cold weather and to formulate preventive strategies.

METHODS: The patients diagnosed with peptic ulcer and upper gastrointestinal bleeding by gastroscopy from January 2008 to January 2010 were randomized into groups to receive different interventions in cold weather. The bleeding, abdominal pain, digestion conditions, and *Helicobacter pylori* status were recorded, and gastroscopy was performed at the end of the winter.

RESULTS: A total of 169 patients were included, and 16 patients were lost to follow-up. A total of 484 person-times of follow-up were performed, including 111 person-times in the health education group, 122 person-times in the ranitidine group, 131 person-times in the rabeprazole group, and 120 person-times in the control group. During follow-up, no hematemesis or black stools occurred. The rate of abdominal pain was highest in the control group, significantly higher than those in the other groups (all $P < 0.05$). The rate of dyspepsia symptoms was also highest in the control group, significantly higher than those in the other groups (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Health education can effectively prevent the recurrence of peptic ulcer and the occurrence of upper gastrointestinal bleeding in cold weather. On the basis of health education, administration of H₂ receptor blocker or proton pump inhibitors appears not to perform better in preventing the recurrence of peptic ulcer and the occurrence of upper gastrointestinal bleeding in cold weather.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cold weather; Peptic ulcer; Upper gastrointestinal bleeding; Intervention; Preventive strategies

Yin DL, Wang J. Impact of cold weather on peptic ulcer and upper gastrointestinal bleeding and preventive strategies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3914-3919 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3914.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i34.3914>

摘要

目的: 研究在寒冷气候下不同干预方法对消化性溃疡及其合并上消化道出血的影响, 筛选预防消化性溃疡及其合并上消化道出血的最佳模式, 制定出寒冷气候下预防消化性溃疡及其合并上消化道出血的策略。

方法: 将2008-01/2010-01胃镜检查发现的活性胃和/或十二指肠溃疡的住院或门诊患者(年龄>18、<70岁)随机分组, 于冬春季寒潮到来时进行相应干预, 观察其上腹痛、消化不良、上消化道出血等发生情况, 并于冬季结束复查胃镜。所有数据采用SPSS17.0软件包进行处理, 统计分析采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性。

结果: 入组患者169例, 失访16例, 随访人次484例, 其中健康教育组111例, 雷尼替丁组122例, 雷贝拉唑组131例, 对照组120例; 随访期间无一例出现呕血和/或黑便。4组上腹痛发生率以单纯随访组最高, 与其他组相比差异显著($P<0.05$); 消化不良症状(嗝气、反酸、饱胀)发生率以单纯随访组最高, 与其他组相比, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: (1)消化性溃疡患者进行健康教育能有效地预防其在寒冷气候下溃疡病复发, 进而能有效地预防消化性溃疡并上消化道出血这一重要并发症; (2)在强调健康教育的同时, 加服相应的H₂受体阻滞剂或质子泵抑制剂等抑酸制剂并不能进一步预防消化性溃疡患者在寒冷气候下溃疡病复发, 因而亦不能更有效地预防其在寒冷气候下并发上消化道出血等并发症。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 寒冷气候; 消化性溃疡; 上消化道出血; 干预; 预防策略

核心提示: 健康教育或合并服用抑酸制剂能有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的出现。在寒冷气候时健康教育预防消化性溃疡复发可以和健康教育加相应抑酸药物相媲美。

殷冬林, 王健. 寒冷气候对南昌地区消化性溃疡及其合并上消化道出血的影响与预防策略. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3914-3919 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3914.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i34.3914>

0 引言

消化性溃疡是消化系统的常见病、多发病, 是多种因素导致的疾病, 其中幽门螺杆菌感染、胃酸/胃蛋白酶的作用和服用非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drug, NSAID)药物是已知的3大主要病因。溃疡发生是黏膜侵袭因素与防御因素平衡失调的结果, 胃酸在消化性溃疡的形成中起关键作用^[1]。上消化道出血系

消化系统急重危症, 严重危及患者生命, 而消化性溃疡引起的上消化道出血居病因之首, 约占50%^[2,3]。近二、三十年来, 由于人们认识的不断深入, 特别是抗幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的规范开展, 以及新型抑酸制剂的开发应用, 消化性溃疡的发病率明显下降^[4,5], 相应地消化性溃疡并上消化道出血等并发症也得以明显减少^[3]。由于人类过于追求经济效益, 破坏了地球环境的内在平衡, 使得气象灾害频现, 对一些消化性系疾病的发生、发展产生了深远的影响, 而消化性溃疡并上消化道出血即是如此。目前对寒冷气候下消化性溃疡并上消化道出血干预方案的预防价值的研究罕见, 缺乏临床随机对照的前瞻性研究。因此对极端气候下消化系统急重危症-消化性溃疡并上消化道出血不同干预方案的预防价值开展临床随机对照的前瞻性研究, 揭示其发病规律, 提出防治思路。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2010-01江西省内镜诊疗中心胃镜检查发现的活性胃和/或十二指肠溃疡的住院或门诊患者(江西省常驻者), 或既往经本中心胃镜确诊且现仍有临床症状的消化性溃疡患者, 且年龄>18、<70岁, 排除了胃肠道肿瘤、肝硬化并食管或胃底静脉曲张、妊娠或哺乳期妇女、精神性疾病、无自制力、语言障碍者。雷贝拉唑钠肠溶片(瑞波特): 国药准字H20020330, 江苏豪森药业有限公司生产, 生产批号090509。雷尼替丁胶囊(兰百幸): 国药准字H33021741, 杭州赛诺菲安万特民生制药有限公司生产, 生产批号1942。胃镜: 奥林巴斯公司生产, 型号: GIF-H260。

1.2 方法 共有169例消化性溃疡患者入组, 通过SPSS11.0软件生成随机数字表, 制定各组的随机分配序列号(包括患者编号、随机数字、分组), 随机分为试验组A(健康教育)、试验组B(雷尼替丁+健康教育)、试验组C(雷贝拉唑+健康教育)、对照组D(单纯随访)。患者入组时签订知情同意书, 所有患者入组后均给以2 wk基础用药(雷贝拉唑10 mg, 1次/d)用于治疗消化性溃疡。随访期间, 我们每天关注天气预报, 当寒潮(冷空气过境, 气温下降10℃左右, 而且最低温度降至5℃以下)来临, 提前1 d电话通知患者进行1 wk相应干预, 并嘱患者观察上腹痛、消化不良症状(反酸、嗝气、饱胀)、上消化道出血(呕血、黑便并相应的周围循环障碍表现)等发生情况,

■ 研发前沿

目前对气象与健康的关系国内外已有一些研究报道, 但主要限于宏观层面上气象与健康的相关性研究, 几乎没有涉及临床干预方面的研究; 而且多是一般气候变化与健康的关系, 对于寒冷气候对健康影响的研究罕见。

■创新盘点

虽然对应激状态下上消化道出血和预防有较多的研究,但与气候相关的上消化道出血的预防并无正规而系统的临床干预研究,因而也没有具有充分科学依据的干预模式。

表 1 入组患者一般情况 (n)

	健康教育组	雷尼替丁组	雷贝拉唑组	对照组	合计
入组	42	42	42	43	169
随访	36	38	41	38	153
失访	6	4	1	5	16
随访	111	122	131	120	481
18-50岁	35	34	33	36	139
51-70岁	7	8	9	6	30
男性	26	25	27	27	105
女性	16	17	15	16	64
吸烟	8	10	9	9	36
不吸烟	34	32	33	33	133

并在随访表上如实记录。干预方法: 试验组A给以健康教育, 试验组B给以雷尼替丁(150 mg, 每天两次, 饭前半小时服)1 wk预防用药加健康教育, 试验组C给以雷贝拉唑(10 mg, 1次/d, 饭前半小时服)1 wk预防用药加健康教育, 对照组D单纯随访。随访结束后随访表统一收回。健康教育采用电话联系的方式, 每次寒潮来临前对患者进行健康教育。(1)寒潮指冬春季节冷空气过境, 气温下降10℃左右, 而且最低温度降至5℃以下;(2)上腹痛及消化不良症状有无由患者在寒冷气候下真实记录;(3)健康教育内容: 寒冷是溃疡病发作并出血的诱发因素之一, 及时防寒保暖, 添加衣物; 注意饮食, 忌食生冷(水果、冷饮、冷食)、浓茶、咖啡、烈酒、不易消化食物等; 避免其他常见的诱发因素, 如劳累、服用非甾体类消炎药或跌打损伤类中草药等。

分析各组消化性溃疡患者在极端寒冷气候下上腹痛、消化不良症状(反酸、嗝气、饱胀)、消化性溃疡复发以及消化性溃疡并上消化道出血发生率。

统计学处理 所有数据采用SPSS17.0软件包进行处理, 统计分析采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

入组患者共169例, 失访16例, 随访人次484例, 其中健康教育组111例, 雷尼替丁组122例, 雷贝拉唑组131例, 对照组120例。随访期间无一例出现呕血和/或黑便各组患者年龄、性别、吸烟与否无明显差异(表1)。

随访期间健康教育组出现上腹痛21例, 发生率为19.91%; 雷尼替丁组出现上腹痛17例, 发生率为13.93%; 雷贝拉唑组出现上腹痛28例, 发

生率为21.37%; 单纯随访组出现上腹痛51例, 发生率为42.50%; 4组上腹痛发生率以单纯随访组为最高($P<0.05$), 有显著性差异。消化不良症状健康教育组出现30例, 发生率为27.03%; 雷尼替丁组出现24例, 发生率为19.67%; 雷贝拉唑组出现35例, 发生率为26.72%; 单纯随访组出现79例, 发生率为65.83%; 消化不良症状发生率也以单纯随访组为最高($P<0.05$), 差异显著。消化不良症状中嗝气、反酸、饱胀发生率4组中单纯随访组最高($P<0.05$), 差异显著(表2, 图1, 2)。上述结果提示: 健康教育或合并服用抑酸制剂能有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的出现。

单纯随访组上腹痛、消化不良症状(嗝气、反酸、饱胀)发生率均比健康教育组及健康教育合并应用抑酸剂组高($P<0.05$), 也具有显著性差异, 表明健康教育合并应用抑酸剂能有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的出现。

单纯随访组上腹痛、消化不良症状(嗝气、反酸、饱胀)发生率均比健康教育或其合并应用抑酸剂组高($P<0.05$)(表3), 表明健康教育或其合并应用抑酸剂均能有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的出现。

健康教育组上腹痛、消化不良症状(嗝气、反酸、饱胀)发生率与合并应用抑酸剂组比较差异没有统计学意义(表4), 表明合并应用抑酸剂与单纯健康教育相比并不能更有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的发生。

3 讨论

消化性溃疡是全球性常见病、多发病。我国临床资料提示, 消化性溃疡患病率在近十多年来呈下降趋势^[1]。上消化道疾病、肝胆胰腺疾病及全身性疾病均可引起上消化道出血, 而消化性溃疡引

表 2 寒冷气候对消化性溃疡患者临床症状的影响(%)

分组	n	上腹痛		消化不良		暖气		反酸		饱胀	
		n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率
健康教育组	111	21	19.91	30	27.03	20	18.02	15	13.51	30	27.03
雷尼替丁组	122	17	13.93	24	19.67	14	11.48	9	7.38	16	13.11
雷贝拉唑组	131	28	21.37	35	26.72	23	17.56	13	9.92	33	25.01
单纯随访组	120	51	42.5	79	65.83	61	50.83	45	37.5	72	60
P值			0		0		0		0		0

■应用要点

健康教育或合并服用抑酸制剂能有效控制寒冷气候下消化性溃疡临床症状的出现。在寒冷气候时健康教育预防消化性溃疡复发可以和健康教育加相应抑酸药物相媲美。

表 3 寒冷气候时单纯随访与健康教育或其合并应用抑酸剂对消化性溃疡临床症状的影响(%)

分组	随访人次	上腹痛		消化不良		暖气		反酸		饱胀	
		n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率
单纯随访组	120	51	42.5	79	65.83	61	50.83	45	37.5	72	60
综合组	364	66	18.13	89	24.45	57	15.66	37	10.17	79	21.7
P值			0.01		0		0		0		0

表 4 寒冷气候时健康教育与合并应用抑酸剂对消化性溃疡临床症状的影响

分组	随访人次	上腹痛		消化不良		暖气		反酸		饱胀	
		n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率	n	发生率
健康教育组	111	21	19.91	30	27.03	20	18.02	15	13.51	30	27.03
药物组	253	45	17.79	59	23.32	37	14.62	22	8.7	49	19.37
P值			0.746		0.572		0.602		0.297		0.238

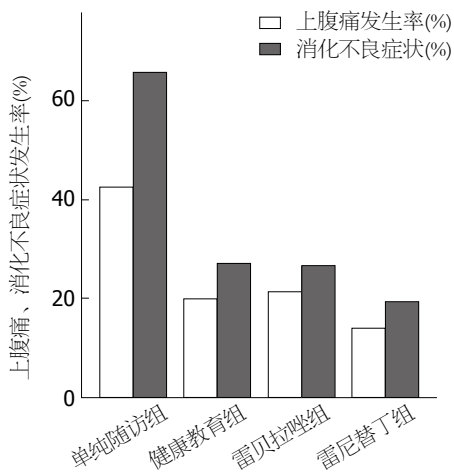


图 1 各组上腹痛、消化不良症状发生率。

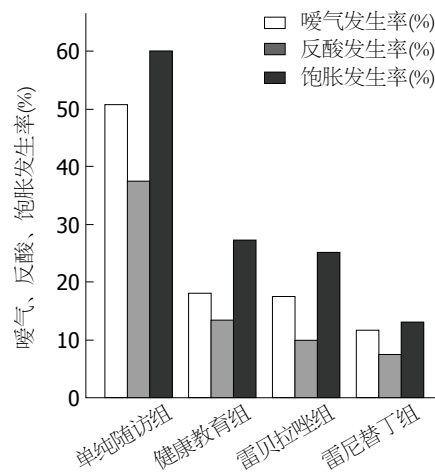


图 2 各组暖气、反酸、饱胀发生率。

起的上消化道出血居上消化道出血病因之首, 约占50%^[2,3]。由于近年PPI在临床的广泛应用, 现在上消化道出血已较前明显减少^[3]。消化性溃疡是一多种因素导致的疾病, 其中*H. pylori*感染、胃酸/胃蛋白酶的作用和服用NSAIDs药物是已知的主要病因。溃疡发生是黏膜侵袭因素与防御因素平衡失调的结果, 胃酸在消化性溃疡的形成

中起关键作用^[1], 胃酸的这一损害作用一般只有在正常黏膜防御和修复功能遭到破坏时才会发生^[1]。急性应激可引起应激性溃疡已经是共识, 但在慢性消化性溃疡患者, 情绪应激和心理障碍的致病作用却没有定论。临床观察发现长期精神紧张、过劳等, 确实容易使溃疡发作或加重, 但多数在慢性消化性溃疡已经存在时发生, 因此情

■同行评价
本文具有一定临床意义。

绪应激主要起诱因作用,可能通过神经内分泌途径影响胃十二指肠分泌、运动和黏膜血流的调节^[1]。NSAIDs通过抑制环氧化酶活性而抑制前列腺素合成,削弱前列腺素对保护胃十二指肠黏膜的作用,从而减弱胃十二指肠黏膜防御因素^[6]。另外非甾体抗炎药多呈弱酸性,可在胃腔及胃壁细胞产生大量的H⁺,破坏胃黏液-HCO₃⁻保护屏障并直接产生细胞毒作用,导致消化性溃疡的形成。大量研究表明非甾体抗炎药可增加消化性溃疡发生几率^[7],服用非甾体抗炎药是消化性溃疡的主要危险因素之一^[8]。

气候是构成人类环境的要素之一,对许多疾病的发生发展都有直接或间接的影响。研究表明,连续3 d高温、低温、激烈变温条件下不少疾病的发病率明显高于一般气候^[9],如高温季节霉菌性阴道炎、痢疾高发^[9-12],且极易导致中暑的发生^[13];低温寒冷则极易引发呼吸道疾病^[14]。2007-2008年冬春之际的雨雪冰冻气候给我国带来了重大的灾害,江西是这场冰雪灾害的重灾区之一。持续低温的恶劣气候,除对人们的生产生活造成了严重影响外,也使许多疾病的发生明显增加,住院患者急剧增多。因此,从医疗卫生角度而言,加强灾害性气候中易感疾病的防治研究,保护人民群众的身体健康,是亟待研究的重要课题。我们前期研究结果显示:气温低的冬春季节消化性溃疡并出血明显增多,消化性溃疡并出血的住院病例数与月平均气温及人体舒适度指数呈负相关,与气候变化的剧烈程度呈正相关^[15]。冬春季节消化性溃疡检出率增高,可能因为冬春季节寒冷气候和/或气温剧变引发机体内分泌失调,从而导致交感神经兴奋,使胃十二指肠黏膜的血管收缩,最终导致黏膜缺血,黏膜防御屏障破坏有关。目前对气象与健康的关系国内外已有一些研究报道,但主要限于宏观层面上气象与健康的相关性研究,几乎没有涉及临床干预及其发病机制、理论的深入研究;而且多是一般气候变化与健康的关系,对于极端气候对健康影响的研究罕见。

上腹痛是消化性溃疡的主要症状,多为灼痛,也可钝痛、胀痛、剧痛或饥饿样不适感。上腹痛一般伴有反酸、嗝气、饱胀等症状^[1]。本研究以上腹痛、消化不良症状(反酸、嗝气、饱胀)作为随访观察指标,其发生率以单纯随访组最高($P<0.05$),表明健康教育或合并应用抑酸制剂能有效预防寒冷气候下消化性溃疡临床症状的发生,提示健康教育或合并应用抑酸制剂能

有效预防消化性溃疡在寒冷季节复发,这与既往研究是一致的。雷尼替丁是组胺H₂受体阻滞剂,能有效抑制组胺、五肽胃泌素以及食物刺激所引起的胃酸分泌,降低胃酸和胃蛋白酶的分泌活性^[16]。雷贝拉唑是新型苯并咪唑质子泵抑制剂,可在酸性的胃壁细胞内激活,特异性地抑制H⁺/K⁺-ATP酶作用,对基础胃酸和由刺激引起的胃酸分泌有抑制作用^[17]。既往研究表明H₂受体阻断剂、质子泵抑制剂能很好预防消化性溃疡复发^[18]。我们的研究表明:健康教育、健康教育+雷尼替丁、健康教育+雷贝拉唑三种干预方案对预防寒冷天气消化性溃疡复发的效果无明显差异,提示在寒冷气候时健康教育预防消化性溃疡复发可以和健康教育加相应抑酸药物相媲美。当然也许因为寒冷程度未足够剧烈,单纯健康教育就可起到很好的预防效果,如果寒冷级别增加,有可能体现健康教育加药物预防方案的优势,我们将继续开展这方面的深入研究。

4 参考文献

- 1 陆再英,钟南山. 内科学. 第7版. 北京:人民卫生出版社, 2007: 305-307
- 2 萧树东,许国铭. 中华胃肠病学. 北京:人民卫生出版社, 2008: 364
- 3 杨欣艳,李恕军,刘飞,唐玉芬,董丽娟,宋洁菲,张跃钟,付蕾,李娜,盛剑秋. 急性非静脉曲张性上消化道出血临床分析. 胃肠病学和肝病杂志 2012; 21: 727-729
- 4 苏亚碧,缪元慧,周东,陈波,张杰,龙梅芳. 消化性溃疡2331例胃镜分析. 昆明医学院学报 2010; 31: 105-108
- 5 方建青,吕颖,周华英,金海娟. 消化性溃疡4962例临床资料分析. 现代中西医结合杂志 2008; 17: 827-828
- 6 黄君杏. 根除幽门螺杆菌与非甾体消炎药致消化性溃疡愈合的关系. 广西医学 2005; 27: 1182-1183
- 7 艾民. 消化性溃疡相关致病因素协同致病性分析. 中国老年学杂志 2010; 30: 177-178
- 8 秦艳. 幽门螺杆菌感染和非甾体类抗炎药与消化性溃疡发病关系的分析. 山西医科大学, 2009
- 9 马玉霞. 甘肃省几种主要传染病的时空分布特征及其对气候变化的响应和预测研究. 兰州大学, 2007
- 10 宁浪. 气候对真菌性阴道炎发病率的影响. 内蒙古中医药 2009; 28: 48-49
- 11 陈胜利. 舟山市1992-2003年细菌性痢疾疫情动态分析. 疾病监测 2005; 20: 138-139
- 12 秦恩强,周志平,赵敏,王凝芳. 2004年5月-9月北京市细菌性痢疾菌群分布和药敏特点分析. 临床内科杂志 2005; 22: 189-190
- 13 杨宏青,陈正洪,刘建安,陈安络. 武汉市中暑发病的流行病学分析及统计预报模型的建立. 湖北中医学院学报 2000; 2: 51-52, 62
- 14 陈正洪,杨宏青,张鸿雁,王祖承,陈波. 武汉市呼吸道和心脑血管疾病气象预报研究. 湖北中医学院学报 2001; 3: 15-17
- 15 吴建军. 南昌市区部分消化性溃疡及其并发症发病与气象的关系. 南昌大学, 2006
- 16 陈新谦,金有豫,汤光. 新编药理学. 第15版. 北京:人民卫生出版社, 2003: 427-436

- 17 Yelken B, Dorman T, Erkasap S, Dundar E, Tanriverdi B. Clonidine pretreatment inhibits stress-induced gastric ulcer in rats. *Anesth Analg* 1999; 89: 159-162 [PMID: 10389796]
- 18 马先槎. 奥美拉唑与雷尼替丁季节性预防消化性溃疡复发的探讨. *实用医学杂志* 2005; 21: 305-306

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.

硬化性肠系膜炎并消化系出血1例

史燕妹, 常江, 黄华

■背景资料

硬化性肠系膜炎是一种少见的肠系膜非特异性炎症, 非肿瘤性瘤样病变, 硬化性肠系膜炎病因及发病机制尚未明确, 免疫功能紊乱、腹部手术、缺血、感染及药物等与其发病有一定关系。硬化性肠系膜炎临床症状无特异性, 腹痛和腹部包块是典型症状, 常并发肠梗阻, 而消化系出血症状罕见。影像学检查和组织病理学是诊断的关键, 确诊后没有最佳的治疗方案, 常予对症处理。

史燕妹, 常江, 黄华, 昆明医科大学第二附属医院消化内科
云南省昆明市 650101

史燕妹, 主要从事消化系统疾病的相关研究。

作者贡献分布: 本文资料由常江收集; 论文由史燕妹完成; 黄华负责审校。

通讯作者: 黄华, 教授, 650101, 云南省昆明市西山区麻园1号, 昆明医科大学第二附属医院消化内科。hhtrq@163.com

收稿日期: 2013-08-01 修回日期: 2013-09-11

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-12-08

Sclerosing mesenteritis with digestive hemorrhage as the first sign: A case report

Yan-Mei Shi, Jiang Chang, Hua Huang

Yan-Mei Shi, Jiang Chang, Hua Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Hua Huang, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 1 Mayuan Road, Xishan District, Kunming 650101, Yunnan Province, China. hhtrq@163.com

Received: 2013-08-01 Revised: 2013-09-11

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-12-08

Abstract

Sclerosing mesenteritis is a rare inflammatory disease of the mesentery. It produces tumor-like masses of the mesentery characterized by varying degrees of fibrosis, chronic inflammation, and fat necrosis. Although sclerosing mesenteritis can be related to autoimmune disorder, ischemia, infection, drugs and surgery, most cases are idiopathic. Clinical manifestations are non-specific, varying from asymptomatic to diffuse abdominal complaints. Radiologic examinations and histologic evaluation of a biopsy specimen are the key to the correct diagnosis. There is no consensus on optimal pharmaceutical treatment and most patients are treated empirically. Herein we report a case of sclerosing mesenteritis with digestive hemorrhage as the first sign in a 60-year-old man.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Sclerosing mesenteritis; Hemorrhage

Shi YM, Chang J, Huang H. Sclerosing mesenteritis with digestive hemorrhage as the first sign: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(34): 3920-3922
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3920.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.34.3920>

摘要

硬化性肠系膜炎是一种少见的肠系膜炎症疾病, 其病变是脂肪坏死、慢性炎症及不同程度的纤维化组成的炎性假瘤。硬化性肠系膜炎病因及发病机制尚未明确, 免疫功能紊乱、腹部手术、缺血、感染及药物等与其发病有一定关系。硬化性肠系膜炎临床症状无特异性, 影像学检查和组织病理学是诊断的关键, 确诊后没有最佳的治疗方案, 大多数都是经验治疗。本例男性患者60岁, 以消化系出血为首发症状就诊, 确诊硬化性肠系膜炎后因无有效治疗消化系出血症状反复发作, 3年来腹部包块进行性增大, 消化系出血症状逐渐加重。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 硬化性肠系膜炎; 消化系出血

核心提示: 硬化性肠系膜炎(sclerosing mesenteritis)病因及发病机制尚未明确, 临床症状无特异性, 腹痛和腹部包块是典型症状, 常并发肠梗阻, 而消化系出血症状罕见, 因此, 本病例能加深临床医师对本病的认识。

史燕妹, 常江, 黄华. 硬化性肠系膜炎并消化系出血1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(34): 3920-3922 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3920.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.34.3920>

0 引言

硬化性肠系膜炎是一种少见的累及肠系膜脂肪的慢性非特异性炎症反应, 按照其病变主要病理成分可分为3个亚型: 肠系膜脂肪营养不良和肠系膜脂膜炎、收缩性肠系膜炎^[1]。该病属于自发性纤维硬化性疾病及炎性假肿瘤, 其病因不明确, 手术、感染、创伤、缺血等被推测为诱发因素。硬化性肠系膜炎好发于50岁以上成年

■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

男性. 该病早期阶段可无任何临床症状, 后期可出现腹痛、低热、腹部包块、体质量下降、肠梗阻、肠道功能紊乱等症状. 硬化性肠系膜炎诊断依据影像学和组织病理学确诊, 此病无任何明确有效的治疗手段, 对于出现相应临床症状的治疗方案也未完全确立. 无任何症状的患者无需治疗, 但激素和免疫抑制剂对于该病的进展疗效不确切. 由于肠系膜血管常受累及, 所以患者无法进行根治手术, 但部分切除术效果不理想^[2]. 本例患者以消化系出血为首发症状, 实属罕见.

1 病例报告

男, 60岁, 因反复黑便3年, 再发加重3 mo余入院. 患者3年前无明显诱因出现黑便, 1次/d, 每次量约100-200 g, 时为柏油样便, 时为成形黑便, 伴乏力, 头晕, 无呕血、腹痛、黏液血便、晕厥、少尿、心悸、紫癜、发热等症状, 于2010-06在外院住院诊治, 行胃肠镜、腹部CT、PET-CT、骨髓穿刺活检术、腹腔镜取组织病理检查等检查, 考虑诊断为: (1)硬化性肠系膜炎; (2)小肠出血可能, 予对症治疗(具体不详). 3年来上述症状反复发作, 多次在当地医院输血治疗, 并自服中药治疗(具体不详), 症状无明显好转, 近3 mo来症状加重, 黑便每日量增至200-300 g. 自起病以来精神、饮食欠佳, 体质量下降5 kg. 既往有阑尾穿孔剖腹探查术病史, 其余无特殊. 体格检查: 发育正常, 贫血貌, 皮肤黏膜苍白, 全身浅表淋巴结未触及肿大, 心肺无明显异常, 腹平坦, 未见肠型及蠕动波, 下腹正中可见一陈旧性手术疤痕, 长约7 cm, 腹壁稍韧, 全腹无明显压痛点, 肝脾触诊不满意, 移动性浊音阴性, 肠鸣音4次/min. 外院检查资料: 腹部CT示(图1)中腹部小肠呈饼状改变, 肠祥间结构不清, 增强扫描该段小肠强化减弱, 相应节段小肠血管被包绕变细, 肠系膜上静脉内密度欠均匀, 肠系膜根部和腹膜后见肿大淋巴结; 全消化系钡餐示第四组和第六组小肠位置异常; PET-CT示腹膜及肠系膜弥漫性增厚, FDG代谢不高, 多考虑炎性病变; 腹腔镜取小肠系膜组织病理结果示纤维组织增生, 炎细胞浸润. 本院实验室检查: 大便潜血阳性; 血常规示Hb 62 g/L; 血生化示: 白蛋白31.9 g/L, 尿素7.5 mmol/L; C反应蛋白3.39 mg/dL; 血沉19 mm/h; 凝血功能、输血全套、肿瘤标志物、抗中性粒细胞胞浆抗体全套、抗核抗体谱、自身免疫性肝病抗体全套、免疫全套、心电图、胸片均正



图1 腹部CT. 腹盆腔巨大混杂密度包块, 考虑来源于肠系膜, 肠系膜上动、静脉穿行于其中.

常; 腹部CT示腹盆腔巨大混杂密度包块, 考虑来源于肠系膜, 肠系膜上动、静脉穿行于其中; 肠镜示肛门至回盲部结肠黏膜未见异常, 见大量黑色血块和血水; 胃镜示慢性非萎缩性胃炎; 全消化系钡餐未发现小肠憩室. ⁹⁹锝扫描未发现明确出血处; 肠系膜血管造影示空肠血供增多, 炎症不能排除.

2 讨论

硬化性肠系膜炎病变为自发性纤维硬化性疾病, 这类疾病还包括腹膜后纤维化、硬化性胆管炎、Riedel甲状腺炎及眶部炎症性假瘤. 硬化性肠系膜炎大部分为单发, 多见于小肠系膜根部, 也可累及结肠系膜, 少见见于胰周、网膜、腹膜后等部位. 该病为良性疾病, 但临床上较少见, 极易误诊为恶性肿瘤. 硬化性肠系膜炎确诊依赖于肠系膜病理学改变包括脂肪变性、脂肪坏死、慢性炎症及纤维化^[3]. 硬化性肠系膜炎病理改变为早期以慢性炎症浸润为主的肠系膜脂肪炎发展到以脂肪坏死为主的肠系膜脂肪不良最后进展为以纤维化为主的回缩性肠系膜炎^[4]. CT对本病具有重要诊断价值, 螺旋CT的冠状位与矢状位可了解包块的范围及其与肠系膜的关系, 多排CT可进行肠系膜血管成像进一步明确包块与肠系膜血管关系, 了解肠系膜血管通畅情况. 硬化性肠系膜炎典型CT表现包括梳齿征、脂环征及假肿瘤包膜等^[5].

硬化性肠系膜炎临床症状缺乏特异性, 大部分患者无自觉症状, 部分患者出现典型症状是腹痛和腹部包块、体质量下降, 极少数患者出现肠梗阻、肠穿孔、血管栓塞等并发症^[6], 而硬化性肠系膜炎出现消化系出血并不多见. 肠系膜纤维化包块直接包绕肠系膜血管或肠系膜血管血栓形成导致肠系膜血管闭塞、狭窄, 最

同行评价

鉴于硬化性肠系膜炎腹部包块常造成压迫而并发肠梗阻, 而硬化性肠系膜炎并消化系出血这一报道对临床具有指导意义.

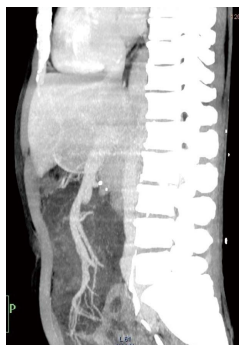


图2 腹部血管成像. 肠系膜上动、静脉穿行于包块之中.

终造成肠壁缺血缺氧而坏死; 另外炎症可累及肠系膜黏膜下脂肪, 进一步浸润至黏膜层, 导致消化系出血. 肠系膜纤维化包块直接包绕肠系膜血管, 腹部血管CT(图2)无法清楚显影肠系膜血管, 可完善⁹⁹钨扫描、肠系膜血管造影、胶囊内镜及小肠镜排除其他病因导致的消化系出血, 并能明确出血部位, 但是应行全消化系钡餐排除腹部包块压迫肠管狭窄会导致胶囊内镜嵌顿.

硬化性肠系膜炎具有3种转归: 炎症部分或完全吸收、病变静止无进展、病变侵袭性发展可危及生命. 作为一种自限性疾病, 患者在确诊硬化性肠系膜炎后未给予特殊治疗择期复查腹部包块自行缩小甚至消失^[7,8]. 部分患者终身无任何症状, 腹部包块未进行性增大. 部分患者病变逐渐进展, 激素和免疫抑制剂如环磷酰胺、硫唑嘌呤等被用于疾病早期进展阶段有一定疗效^[9]. 沈家驹等^[10]报道非甾体抗炎药和胎盘组织液对硬化性肠系膜进展有一定疗效, 其机制可能是非甾体抗炎药的非特异性抗炎作用和胎盘组织液的抑制纤维组织增生、软化疤痕. Rothlein等^[11]应用肿瘤坏死因子拮抗剂于一例硬化性肠系膜炎患者并取得良好疗效. 出现并发症的部分患者接受手术治疗, 病变位于肠系膜边缘、未累及主要血管可行病变切除术, 病变广泛、累及主要血管可行部分病变清除术, 但术后仍有复发可能^[12].

硬化性肠系膜炎并消化系出血考虑为肠壁缺血坏死导致, 而用于治疗溃疡或曲张静脉破裂出血的生长抑素、止血敏等可导致肠系膜血管血流减少或肠系膜血管血栓增加进一步加重肠壁缺血坏死, 故不考虑使用常规治疗消化系出血措施治疗硬化性肠系膜炎并消化系出血,

给予黏膜保护及黏膜修复治疗. 用抑制血管生长的沙利度胺治疗, 也可因减少肠壁血供而加重出血. 患者病变累及肠系膜血管, 手术无法行完全切除, 但只给予部分切除术, 未缓解血管被包裹程度, 可能治疗效果欠佳.

硬化性肠系膜炎发病率低, 临床症状无特异性, 确诊后治疗手段有限, 硬化性肠系膜炎并消化系出血无法完全缓解症状, 积极对症处理, 避免出现失血性休克、贫血性心脏病等并发症.

3 参考文献

- 曹艳, 凌华威, 陈克敏. 硬化性肠系膜炎的病理特点及影像学表现. *诊断学理论与实践* 2006; 5: 273-275
- 吴培, 曹斌, 王国梁, 沈历宗, 吴文溪. 硬化性肠系膜炎的诊断与治疗(附9例报告). *南京医科大学学报(自然科学版)* 2010; 30: 1827-1829
- Gu GL, Wang SL, Wei XM, Ren L, Li DC, Zou FX. Sclerosing mesenteritis as a rare cause of abdominal pain and intraabdominal mass: a cases report and review of the literature. *Cases J* 2008; 1: 242 [PMID: 18925952 DOI: 10.1186/1757-1626-1-242]
- Emory TS, Monihan JM, Carr NJ, Sobin LH. Sclerosing mesenteritis, mesenteric panniculitis and mesenteric lipodystrophy: a single entity? *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 392-398 [PMID: 9130985 DOI: 10.1097/00000478-199704000-00004]
- Horton KM, Lawler LP, Fishman EK. CT findings in sclerosing mesenteritis (panniculitis): spectrum of disease. *Radiographics* 2003; 23: 1561-1567 [PMID: 14615565 DOI: 10.1148/rg.1103035010]
- White B, Kong A, Chang AL. Sclerosing mesenteritis. *Australas Radiol* 2005; 49: 185-188 [PMID: 15845064 DOI: 10.1111/j.1440-1673.2005.01400.x]
- Hasbahçeci M, Başak F, Seker M, Canbak T, Kiliç A, Alimoğlu O. Spontaneous remission of sclerosing mesenteritis. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 378-380 [PMID: 22965510]
- Lee HJ, Kim JI, Ahn JW, Kim JH, Cheung ME, Park SH, Kim JK, Im S. [Spontaneous regression of sclerosing mesenteritis presenting as a huge mass]. *Korean J Gastroenterol* 2012; 59: 317-320 [PMID: 22544031]
- Bush RW, Hammar SP Jr, Rudolph RH. Sclerosing mesenteritis. Response to cyclophosphamide. *Arch Intern Med* 1986; 146: 503-505 [DOI: 10.1001/archint.1986.00360150113013]
- 沈家驹, 潘林祥, 朱泰来. 硬化性肠系膜炎1例. *江苏医药* 1987; (8): 453
- Rothlein LR, Shaheen AW, Vavalle JP, Smith SV, Renner JB, Shaheen NJ, Tarrant TK. Sclerosing mesenteritis successfully treated with a TNF antagonist. *BMJ Case Rep* 2010; 2010: pii: bcr0720103145 [PMID: 22802373]
- 顾国利, 王石林, 周晓武. 国人特发性收缩性肠系膜炎47例. *世界华人消化杂志* 2006; 15: 1890-1895

编辑 田滢 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象、应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈光 教授
吉林大学第一医院

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

虞必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王蔚虹 教授
北京大学第一医院

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

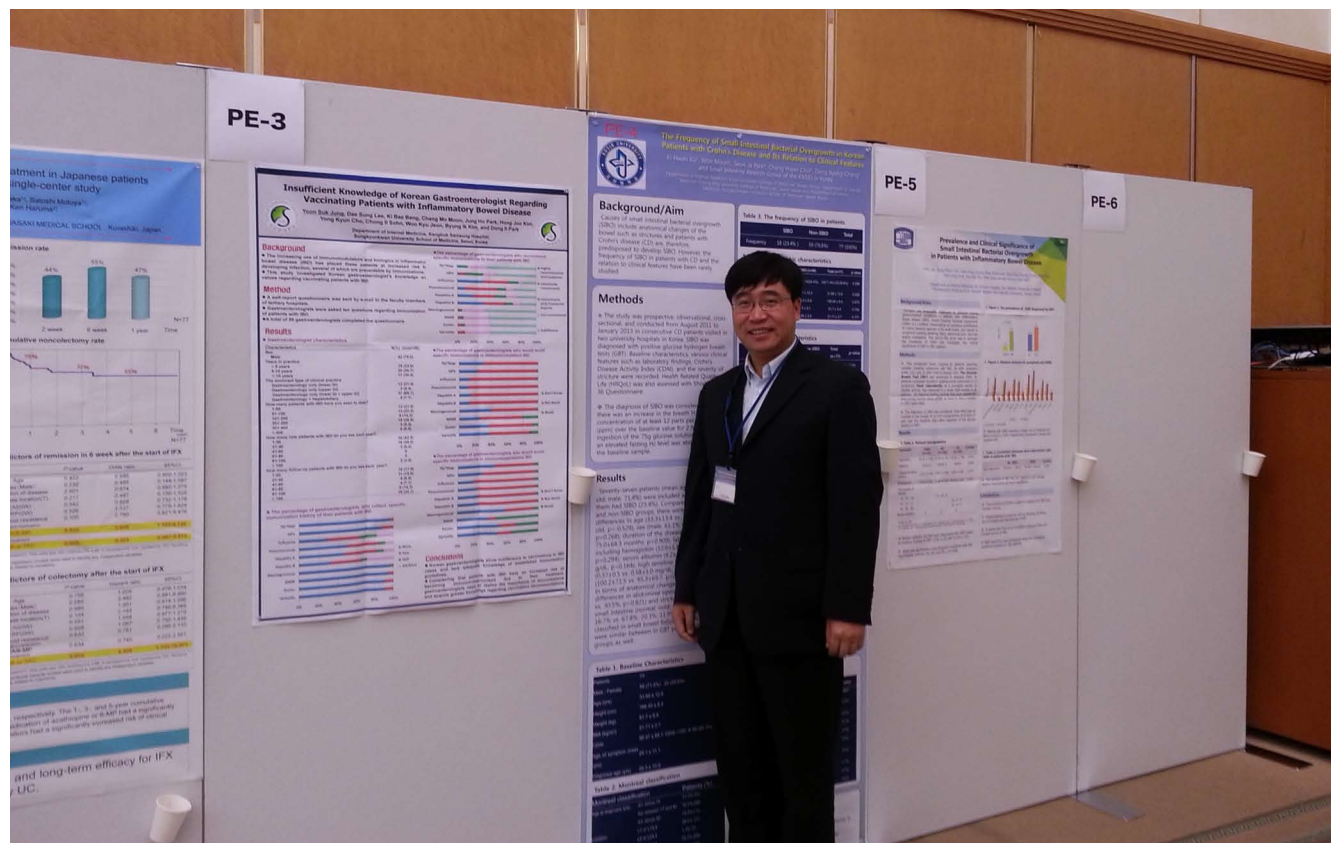


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 12 月 18 日 第 21 卷 第 35 期 (Volume 21 Number 35)



35/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思风教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年12月18日 第21卷 第35期 (总第439期)

述 评	3923 抗生素治疗克罗恩病的合理选择与应用 黄奇, 周丽峰, 缪应雷
基础研究	3932 异常凝血酶DCP基因克隆表达、纯化及单克隆抗体制备与鉴定 沈鹏, 司进, 李琦雯, 渠利利, 李璐蓉, 严晓璐, 季国忠 3940 辛伐他汀保护小鼠急性肝衰竭肝损伤 雷延昌, 罗盼, 李雯 3947 大黄治疗重症急性胰腺炎肠动力衰竭的机制 薛育政, 吴燕敏, 盛颖玥, 陆宇峰, 吴铁龙, 刘宗良, 俞宪民, 李兆申
文献综述	3954 <i>hMLH1</i> 甲基化、MSI与胃癌关系的研究进展 毛远天, 刘金禄, 王震, 陈业阳, 陈俊强 3961 胰岛素/胰岛素样生长因子与肝再生的关系 褚延魁, 王胜智, 刘育蕾, 康志龙 3965 Cajal间质细胞与肠易激综合征关系的研究进展 李泽培, 邱野, 彭燕 3971 大肠癌筛查前病变人群随访间隔的研究进展 杨黎明, 杨琛, 闫蓓, 陈涵一, 孙乔
研究快报	3977 薯蓣皂苷元通过MAPK通路对食管癌细胞Eca109的调控 林杰, 谈永飞, 马铁梁, 葛志军, 吴媛媛, 丁伟良, 冯加可, 蒋国军, 史国振, 唐志安 3983 飞机客舱中的气压变化对胆道动力的影响 周迈, 李天牧 3988 NAFLD家兔肠道菌群与肠黏膜Toll样受体4的关系 王海昆, 杨涛, 姚萍 3994 高渗透压法制备细菌外膜扫描电镜样品 牛小羽, 牛畅, 冯尔玲, 刘先凯, 朱力, 张玫
临床经验	3999 自身免疫性肝炎患者血清学指标与肝活检病理的关系 郑聪, 褚燕君, 张芳宾, 李娅, 孙静 4006 自身免疫性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群的异常表达 肖锐, 陈楠, 方维丽, 周璐, 张洁, 李姝, 郑忠青, 王邦茂, 刘文天 4014 超声测量幽门管内径对诊断十二指肠反流的临床意义 汪惠鹏, 王学梅, 王云忠 4019 落新妇对缺血再灌注损伤肝脏HO-1表达的影响 慕宁, 江艺, 吕立志 4024 ZIC1和P130在胆管细胞癌中表达及其临床意义 邓昌林, 许辉, 谢明, 邹文俊, 周淑蓉 4030 补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒肠炎的意义 金晓荔, 罗晓明 4034 原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤33例 张迎东, 许腾, 宋军, 徐为 4037 ETV1转录因子在胃肠间质瘤中的作用 李强, 徐龙, 刘先发 4043 苏南地区无症状人群结肠肿瘤发生风险评分系统的建立与验证 陈国昌, 毛伯能, 刘芊, 钱信, 刘雷 4050 <i>KLK10</i> 和 <i>HER-2/neu</i> 基因在结肠癌中的表达及临床意义 朱晓亮, 刘伟中, 饶雪峰, 袁晨 4056 内镜下支架置入联合新辅助化疗治疗结肠癌恶性梗阻 吴洁, 荣大庆, 柳青峰, 耿宣, 张志强, 董齐, 王燕庆 4060 胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的Meta分析 王柏清, 孙光斌, 姜文辉, 南寿山, 张宝芹

病例报告	4066 肝内胆管腺瘤的超声造影表现1例 温艳婷, 敬基刚, 罗燕
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3960 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 3970 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3976 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3987 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 4013 《世界华人消化杂志》正文要求 4018 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 4029 《世界华人消化杂志》外文字符标准 4033 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 4055 《世界华人消化杂志》栏目设置 4068 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 缪应雷, 主任医师, 650032, 云南昆明西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-12-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

December 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 35

EDITORIAL	3923 Reasonable selection and application of antibiotics in the treatment of Crohn's disease <i>Huang Q, Zhou LF, Miao YL</i>
BASIC RESEARCH	3932 Human des- γ -carboxy prothrombin: Cloning, expression and monoclonal antibody preparation <i>Shen P, Si J, Li QW, Qu LL, Li LR, Yan XL, Ji GZ</i> 3940 Administration of simvastatin protects against acute liver failure in mice <i>Lei YC, Luo P, Li W</i> 3947 Effect of Da-Huang on intestinal motility failure in rats with severe acute pancreatitis <i>Xue YZ, Wu YM, Sheng YY, Lu YF, Wu TL, Liu ZL, Yu XM, Li ZS</i>
REVIEW	3954 Relationship between <i>hMLH1</i> methylation, microsatellite instability and gastric cancer <i>Mao YT, Liu JL, Wang Z, Chen YY, Chen JQ</i> 3961 Relationship between insulin/insulin-like growth factor and liver regeneration <i>Chu YK, Wang SZ, Liu YL, Kang ZL</i> 3965 Relationship between interstitial cells of Cajal and irritable bowel syndrome <i>Li ZP, Qiu Y, Peng Y</i> 3971 Follow-up intervals for precancerous colorectal conditions <i>Yang LM, Yang C, Yan B, Chen HY, Sun Q</i>
RAPID COMMUNICATION	3977 Diosgenin regulates proliferation, apoptosis, migration and invasion of human esophageal cancer Eca109 cells via the MAPK signaling pathway <i>Lin J, Tan YF, Ma TL, Ge ZJ, Wu YY, Ding WL, Feng JK, Jiang GJ, Shi GZ, Tang ZA</i> 3983 Impact of airplane cabin pressure on biliary motility in rabbits <i>Zhou M, Li TM</i> 3988 Association between intestinal flora and Toll-like receptor 4 in rabbits with nonalcoholic fatty liver disease <i>Wang HK, Yang T, Yao P</i> 3994 Preparation of samples for electron microscopy by high osmotic pressure method <i>Niu XY, Niu C, Feng EL, Liu XK, Zhu L, Zhang M</i>
CLINICAL PRACTICE	3999 Correlation between serum indexes and hepatic biopsy histopathology in patients with autoimmune hepatitis <i>Zheng C, Chu YJ, Zhang FB, Li Y, Sun J</i> 4006 Abnormal peripheral blood lymphocyte subsets in patients with autoimmune hepatitis <i>Xiao R, Chen N, Fang WL, Zhou L, Zhang J, Li Z, Zheng ZQ, Wang BM, Liu WT</i> 4014 Significance of ultrasonic measurement of pyloric canal diameter in diagnosis of duodenogastric reflux <i>Wang HP, Wang XM, Wang YZ</i> 4019 Effect of astilbin on HO-1 expression in hepatic warm ischemia-reperfusion injury <i>Mu N, Jiang Y, Lv LZ</i> 4024 Clinical significance of expression of ZIC1 and P130 in cholangiocarcinoma <i>Deng CL, Xu H, Xie M, Zou WJ, Zhou SR</i> 4030 Significance of zinc supplementation in infants with rotavirus enteritis <i>Jin XL, Luo XM</i> 4034 Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: Analysis of 33 cases <i>Zhang YD, Xu T, Song J, Xu W</i> 4037 Role of ETV1 transcription factor in gastrointestinal stromal tumor cells <i>Li Q, Xu L, Xiu XF</i> 4043 Derivation and validation of a prediction rule for estimating colorectal neoplasm risk in asymptomatic individuals in southern Jiangsu province <i>Chen GC, Mao BN, Liu Q, Qian J, Liu L</i> 4050 Clinical significance of <i>KLK10</i> and <i>HER-2/neu</i> expression in colon cancer <i>Zhu XL, Liu WZ, Rao XF, Yuan S</i> 4056 Endoscopic stenting combined with neoadjuvant chemotherapy for treatment of malignant colorectal obstruction <i>Wu J, Rong DQ, Liu QF, Geng X, Zhang ZQ, Dong Q, Wang YQ</i> 4060 Double balloon enteroscopy vs capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding: A Meta-analysis <i>Wang BQ, Sun GB, Lou WH, Nan SS, Zhang BQ</i>

CASE REPORT	4066 Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of an intrahepatic bile duct adenoma <i>Wen YT, Jing JG, Luo Y</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ying-Lei Miao, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

抗生素治疗克罗恩病的合理选择与应用

黄奇, 周丽峰, 缪应雷

黄奇, 周丽峰, 缪应雷, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

缪应雷, 教授, 主要从事炎症性肠病的诊治。

作者贡献分布: 此课题由缪应雷设计; 资料整理、数据分析由黄奇与周丽峰完成; 文章修改和审阅由缪应雷完成。

通讯作者: 缪应雷, 教授, 博士生导师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。

myldu@sina.com

电话: 0871-5324888-2532

收稿日期: 2013-08-19 修回日期: 2013-11-07

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Reasonable selection and application of antibiotics in the treatment of Crohn's disease

Qi Huang, Li-Feng Zhou, Ying-Lei Miao

Qi Huang, Li-Feng Zhou, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2013-08-19 Revised: 2013-11-07

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

Crohn's disease (CD) is one of the two major forms of inflammatory bowel disease (IBD). Although the etiology of CD is unclear, many experimental and clinical observations support the potential role for intestinal microflora in the pathogenesis of CD. Manipulation of the luminal content using antibiotics may therefore represent a potentially effective therapeutic option. Some randomized controlled trials have demonstrated the efficacy of these drugs in treating the perianal disease, inducing and maintaining of CD remission and decreasing CD recurrence rates in operated patients. However, the use of antibacterial therapy for CD is also controversial, even this approach is frequently and successfully adopted in clinical practice. Fairly narrow indications for antibiotics are suggested by current management guidelines. Large studies are required to better define the role of antibacterial agents and combination regimens in CD. Broad-

spectrum antibiotics, such as metronidazole, fluoroquinolones and rifaximin, are widely used to treat CD, and their effects have been recognized. Because of the lack of adequate theoretical support and adverse drug reactions, the reasonable application of antibiotics to treat CD is still a clinical problem.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Antibiotics; Crohn's disease; Gut microbiota; Metronidazole; Ciprofloxacin; Rifaximin

Huang Q, Zhou LF, Miao YL. Reasonable selection and application of antibiotics in the treatment of Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3923-3931 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3923.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3923>

摘要

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种慢性复发性肠道炎症性疾病,其发病机制至今尚不明确。大量的研究表明肠道细菌参与CD的始动和持续。抗生素通过改变肠道菌群发挥作用,单独或联合其他药物使用,是治疗CD的合理策略。虽然已有研究证实抗生素对活动期CD、静止期CD、预防术后复发、肛周瘘管等都有疗效,但抗生素目前仍只被推荐用于有感染并发症的CD患者。抗生素用于治疗CD仍需大样本、多中心循证医学证据。目前被大家广泛应用于CD治疗的抗生素有甲硝唑、喹诺酮类药物和利福昔明等,尽管疗效得到大家的认可,但缺乏足够的理论支撑,且目前药物的不良反应,使得合理规范的使用抗生素治疗CD仍是临床一大难题。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抗生素; 克罗恩病; 肠道菌群; 甲硝唑; 环丙沙星; 利福昔明

核心提示: 研究证实抗生素对活动期克罗恩病(Crohn's disease, CD)、静止期CD、预防术后复发、肛周瘘管并发症等都有疗效,但抗生素是否需要及种类、剂量、维持时间、是否需要与其

■背景资料

抗生素可用于治疗克罗恩病(Crohn's disease, CD)并发症,亦可用于CD活动期、术后预防复发。目前广泛使用的治疗CD的抗生素有甲硝唑、喹诺酮类药物和利福昔明等。尽管疗效得到一定的认可,但缺乏足够的理论支撑,且药物可产生严重的不良反应,使得合理规范的使用抗生素治疗CD仍是临床一大难题。

■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■ 研发前沿

目前的CD抗生素治疗属经验治疗,有肛周病变及感染并发症时抗生素的使用获得肯定,但其维持时间、最佳剂量、是否需要与其他治疗联用以及长期使用可能带来的不良影响及耐药性,仍需进一步探讨。

他治疗联用以及长期使用可能带来的不良反应,仍需更多循证医学证据。

黄奇, 周丽峰, 缪应雷. 抗生素治疗克罗恩病的合理选择与应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3923-3931 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3923.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3923>

0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种慢性复发性肠道炎症性疾病,其发病机制至今尚不明确。目前为大家接受的机制是:在环境因素作用下,肠道菌群及产物刺激肠道黏膜免疫系统,诱发具有遗传易感人群的肠道免疫系统功能紊乱,引起T细胞活化以及体液免疫的发生,导致CD发生^[1]。目前CD治疗常选用减轻炎症的氨基水杨酸制剂、糖皮质激素,抑制宿主对细菌的过度激活的免疫反应的免疫调节剂以及以炎症反应过程的不同环节为作用靶点的生物制剂。但这些药物临床治疗效果欠佳,不良反应较大,病情常反复。比起单纯的改善症状、抑制宿主的免疫反应及炎症过程的治疗,减少发病始因的治疗策略更有优势^[2]。

肠道细菌被认为是参与CD发病的始动和持续因素。虽然尚缺乏足够的证据证实存在特异的细菌与CD的发病相关,但结核分枝杆菌、假单胞菌、大肠杆菌、脆弱拟杆菌等被均报道过与CD密切相关^[3]。在无菌动物体内构建肠道炎症模型的失败;CD好发部位是肠道接触细菌最多的部位;广谱抗生素能改善慢性肠道炎症,对粪流(fecal stream)进行外科转移手术能预防CD病的复发;CD患者肠道拟杆菌等厌氧菌增多,而双歧杆菌、乳酸菌等益生菌的减少等这些发现都说明了肠道菌群对CD的发生发展有重要作用^[4,5]。抗生素通过改变肠道菌群发挥作用,单独或联合其他药物使用,是治疗CD的合理策略。

目前被大家广泛应用于CD治疗的抗生素有甲硝唑、喹诺酮类药物和利福昔明等。他们不仅用于治疗CD并发症(表1),亦用于CD活动期、术后预防复发的治疗。尽管疗效得到大家的认可,但缺乏足够的理论支撑,且目前药物的不良反应,使得合理规范的使用抗生素治疗CD仍是临床一大难题。

1 抗生素在CD治疗中的作用

1.1 抗结核药物 1913年, Dalziel等^[6]发现副结核分枝杆菌(*M. avium* subspecies *paratuberculosis*,

MAP)感染反刍动物后,能诱发慢性非干酪样坏死性肠炎,与人类CD的病理改变有很多相似之处,由此认为MAP感染可能是引起CD的病因。近100年来,大量研究集中在副结核分枝杆菌感染与CD发病的关系上,但两者之间的关系仍不明确。1980-1990年,有大量研究报道了在CD患者血液和肠黏膜组织中能分离出MAP,推测MAP是CD的病因^[7]。基于此,许多抗结核药物用于临床CD的治疗中。但2007年Selby等^[8]使用氯法齐明、克拉霉素、利福布丁3种抗结核药物对213例CD患者进行持续两年的观察治疗,结果发现仅在最初的联合布地奈德治疗的16 wk能观察到显著疗效,接下来的两年,在任何时间点都没发现抗结核药物组与对照组有显著的区别。将抗结核药物与激素联合也收效甚微。由此认为这3种抗结核药物并不能有效治疗CD。就此MAP与CD的关系遭到了质疑,但这结果并不能完全否定MAP在CD发病中的作用。此研究选取的联用的3种抗结核药物虽然对MAP有很好的治疗效应,但剂量选择相对较低,而对照组的美沙拉嗪或硫唑嘌呤也有潜在的抗结核活性,因此与对照组无区别并不能说明其无效。而现在被大家广为接受的CD治疗药物抗肿瘤坏死因子在对宿主抵抗结核分枝杆菌的过程中也发挥了重要作用。且一些临床研究也发现抗结核药物对CD有治疗作用。虽然不能排除这些抗结核药物具有的广谱抗菌活性(例如利福霉素及其衍生物利福昔明,能有效的抗拟杆菌、衣原体、李斯特菌等),但抗结核药物对CD的治疗作用不能忽视^[9,10]。

1.2 广谱抗菌药 MAP并不是被研究的引发CD的唯一病原体,耶尔森氏鼠疫、李斯特菌、衣原体等都被报道是CD的病因。且研究发现CD患者肠道致病菌增加,而益生菌减少是发病的重要原因^[11]。抗生素可能通过不同方式达到对CD起到治疗作用,例如通过降低患者肠腔内的有害细菌,促进益生菌生长达到减轻炎症、缓解病情、防止复发;通过减少肠腔内细菌对周围组织的侵犯,减少细菌迁移和系统播散以改善疼痛、腹泻等症状^[12]。尽管研究者们仍在探索细菌是CD的最初病因,抑或只是通过破损的肠道壁加重患者症状,还是通过各种途径引起免疫系统的过度激活,但临床上已经广泛使用抗生素治疗各个阶段的CD^[13]。

1.2.1 活动及静止期CD: 具有黏附侵袭性的大肠杆菌也在CD患者的肠黏膜组织中被发现,这

表 1 抗生素治疗CD的并发症

1 腹腔脓肿、蜂窝织炎
2 肛瘘、肛周脓肿、肛裂等肛周疾病
3 肠道狭窄伴细菌过度生长
4 回结肠等肠间瘘、肠-阴道瘘、肠-膀胱瘘等内瘘
5 术后感染
6 其他感染(如梭状菌感染)

种致病菌侵入巨噬细胞中,并在细胞内复制,从而导致肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的大量释放,其在CD的发生发展中起重要作用^[14]。克拉霉素是一种广谱的大环内脂类抗生素,能渗入巨噬细胞,有效的杀灭致病菌,但现有的研究证实其对CD的治疗效果不佳,故不推荐临床使用^[15]。

CD治疗中最常用的两个抗生素是甲硝唑和环丙沙星。这两种抗生素均具有广谱抗菌活性和免疫调节作用,对肠杆菌等厌氧菌有很强的抗菌活性。他们被多项临床实验用于CD活动期的治疗,尽管结果存在争议,但能肯定其对结肠或回结肠活动期CD有很好的治疗作用^[16,17]。

抗生素要对CD达到治疗作用往往需要长期使用,但是不良反应的高发限制了其使用。口服不易吸收,在肠道浓度较高的广谱抗生素利福昔明在此方面显现了更大优势。由于其较少的副作用,能被患者长期耐受,近年来作为CD治疗药物被广泛研究。临床研究证实其能显著改善CD患者的症状,尤其是轻中度CD、激素抵抗或依赖的患者^[18,19]。虽然已有报道称使用利福昔明可导致难辨梭状芽孢杆菌(*clostridium difficile*, *Cd*)感染^[20],但其仍被学者们推荐用于对甲硝唑耐药患者的治疗。

1.2.2 预防术后复发: 肠道切除术后防止复发是CD手术患者预后好坏的关键,而抗生素的合理利用是重点。术后复发与细菌或其产物有密切关联是公认的。术后回盲瓣的缺失,使细菌定植于小肠,可能是复发的主要原因^[21]。术后复发的抗生素集中在甲硝唑、奥硝唑或者两者与其他药物的联合使用。预防术后复发通常需要长期服药,而此两种药物所带来的不良反应制约着临床应用^[22]。亦有研究建议使用甲硝唑3 mo后使用硫唑嘌呤维持治疗,以降低抗生素长期使用的不良反应^[23]。利福昔明因为其较少的不良反应,所以在预防治疗方面具有很大潜力。

1.2.3 肛周疾病及瘘管: CD患者常并发肛周病变,

肛瘘最常见,单一手术治疗疗效不佳,常出现术后复发,需积极予以药物治疗^[24]。甲硝唑和环丙沙星已被多项研究证实能有效地减少瘘管的流量,促进瘘管愈合^[25]。甲硝唑和环丙沙星是治疗非复杂性肛周瘘管的一线用药。通常在脓肿引流后,持续使用3 mo的甲硝唑[10-20 mg/(kg·d), *qd*]、环丙沙星(500 mg, *bid*)或两者联用,其效果显著。而对于难治性瘘管,联合硫唑嘌呤、英孚利单抗疗效更佳^[26]。维持治疗也应考虑上述抗生素。尽管大量研究证实抗生素对肛周疾病治疗有效,但多为非对照的小样本研究。这些研究中,甲硝唑及环丙沙星虽然能降低瘘管症状,但并不能显著促使瘘管的闭合。另外,一旦停药,容易复发,且抗生素的不良反应也限制了其在临床上的使用。但除口服外,使用10%甲硝唑软膏(0.7 g/次, *tid*)治疗肛周CD,患者肛周流脓和肛周疼痛明显好转,且有良好的耐受性和较少的不良反应,可作为CD肛周流脓和肛周疼痛的辅助性治疗手段^[27]。

1.3 现存的缺陷

1.3.1 作用部位: CD可发生于从口腔至肛门整个消化道黏膜,主要以回肠末端和升结肠部位为主。肠道细菌在不同个体、不同部位大有不同,不同抗生素对不同部位的治疗效果亦是不一样的^[50]。Sutherland等^[36]对99例活动期CD使用甲硝唑发其对病变位于结肠或回结肠病变者均有效,而对单独的小肠无效。而Leirper等^[15]对25例对美沙拉嗪、激素、硫唑嘌呤治疗无效的活动期患者予克拉霉素治疗,发现克拉霉素短期使用能减少哈佛-布拉德肖指数,但与病变部位无关。因此需要根据病变部位选择合适的抗生素。但现大部分研究并不严格对比不同部位的抗生素治疗效果,且这些研究样本较少,缺乏对照,要针对不同部位的CD选择不同药物提供依据,还需更大样本、随机对照试验。

1.3.2 疾病的进程及表现: CD患者处于活动期(轻、中、重)及术后,选用的抗生素是不一样的。各项指南均不提倡轻中度CD患者使用抗生素,但重度却意见不一。而目前的研究大部分并没有很好的区分活动期CD的活动度,仅泛泛而谈抗生素应该用于活动期还是静止期CD,因此具有很局限性。

术后的维持治疗多推荐使用免疫调节剂和生物制剂,但由于两类药物有较多的禁忌症,导致许多患者无法受益^[51]。而抗生素对CD术后预防复发的研究为这些患者提供了可选方案。已

■相关报道

国内外已有研究证实抗生素对活动期CD、静止期CD、预防术后复发、肛周瘘管并发症等都有疗效,但相关的指南仍只推荐用于有感染并发症CD患者。

■创新盘点

文章从CD治疗使用的抗生素的种类及其应用范围和现存的缺陷等方面综述了抗生素治疗CD时的选择及应用。尤其对近年来的新的研究成果进行了全面准确的概括,具有一定的临床参考价值。

表 2 抗生素治疗CD临床研究

研究者(年)	人数(n)	持续时间	分组(剂量)		伴随治疗	结果
			抗生素	对照		
活动期CD						
Blichfeldt等 ^[28] , 1978	22	2 mo	甲硝唑(250 mg <i>qid</i>)	-	泼尼松, 柳氮磺吡啶	结肠型CD有治疗效果, 其余与对照组无差别
Elliott等 ^[29] , 1982	51	12 mo	磺胺多辛(1500 mg/wk), 乙噻啶(75 mg/wk)	-	-	无效
Ursing等 ^[30,31] , 1982	78	4 mo	甲硝唑(800 mg)	柳氮磺吡啶(3 g)	-	两者都能有效的降低CDAI, 且甲硝唑能用于对柳氮磺吡啶耐药者
Shaffer等 ^[32] , 1984	27	12 mo	乙胺丁醇[15 mg/(kg•d)], 利福平[10 mg/(kg•d)]	安慰剂	-	无效
Ambrose等 ^[33] , 1985	72	4 wk	甲硝唑(400 mg <i>bid</i>)+复方新诺明(960 mg <i>bid</i>)	安慰剂	-	抗菌药物对复发CD的症状改善作用微小
Basilisco等 ^[34] , 1989	15	6 mo	利福布丁(300 mg/d)	-	-	无效
Afdhal等 ^[35] , 1991	49	3 mo	氯法齐明(100 mg/d)	安慰剂	泼尼松	轻微有效
Sutherland等 ^[36] , 1991	105	16 wk	甲硝唑(20 mg/kg) 甲硝唑(10 mg/kg)	安慰剂	-	能有效降低患者CDAI, 尤其是20 mg组, 但抗生素组与对照组缓解率无显著区别
Swift等 ^[37] , 1994	78	24 mo	利福平(450、600 mg/d)+异烟(300 mg/d)+乙胺丁醇[15 mg/(kg•d)]	-	-	效果不佳
Prantera等 ^[38] , 1994	40	2 mo	利福平(600 mg)+乙胺丁醇[15 mg/(kg•d)]+氯苯砒(100 mg/d)每周使用6 d+氯法齐明(100 mg/2d)	安慰剂	甲基强的松龙	能改善CD复发
Prantera等 ^[39] , 1996	41	12 wk	甲硝唑(1 g/d)+环丙沙星(1 g/d)	甲泼尼松(0.7-1.0 mg/kg) 美沙拉嗪(2 g <i>bid</i>)	-	抗生素组与激素组缓解率差异无统计学意义
Colombel等 ^[40] , 1999	37	6 wk	环丙沙星(500 mg <i>bid</i>)	-	-	环丙沙星与美沙拉嗪治疗结果相当
Leiper等 ^[41] , 2000	25	4 wk	克拉霉素(250 <i>bid</i>)	-	美沙拉嗪、糖皮质激素、硫唑嘌呤	有效降低CD患者的HBI
Goodgame等 ^[42] , 2001	18	3 mo	乙胺丁醇[15 mg/(kg•d)]+克拉霉素(1000 mg/d)	-	-	无效
Arnold等 ^[43] , 2002	47	6 mo	环丙沙星(500 mg <i>bid</i>)	安慰剂	-	环丙沙星对中重度活动期CD有很好的治疗效果
Steinhart等 ^[44] , 2002	134	8 wk	甲硝唑(500 mg <i>bid</i>)+环丙沙星(500 mg <i>bid</i>)	安慰剂	布地奈德	虽抗生素组与对照组之间无差异, 但对结肠型CD有很好疗效
Prantera等 ^[45] , 2006	83	12 wk	利福昔明(800 mg <i>qid</i>) 利福昔明(400 mg <i>bid</i>)	安慰剂	美沙拉嗪	对轻中度CD有治疗作用, 以800 mg <i>bid</i> 效果为佳
Selby等 ^[8] , 2007	213	24 mo	克拉霉素(750 mg/d)+利福布丁(450 mg/d)+氯法齐明(50 mg/d) 克拉霉素(1 g/d)	安慰剂	泼尼松	16 wk, 抗生素联合激素治疗, 疗效优于对照组, 撤出激素, 2年内无复发
Leiper等 ^[15] , 2008	41	12 wk	利福昔明-EIR(400 mg、800 mg、1.2 g <i>bid</i>)	安慰剂	齐多夫定, 羟氯喹, 止泻剂	4 wk时, 克拉霉素组治疗效果优于抗生素, 12 wk, 两组之间无差异
Prantera等 ^[46] , 2012	402	12 wk	利福昔明-EIR(400 mg、800 mg、1.2 g <i>bid</i>)	安慰剂	-	800 mg <i>bid</i> 组诱导缓解效果最佳

CD术后预防复发				3 mo抗生素维持缓解较安慰剂佳 3y 两组之间则无差异	
Rutgeerts等 ^[47] , 1995	60	3年	甲硝唑 (20 mg/kg)	安慰剂	-
Leiper等 ^[41] , 2000	25	12-60 wk	克拉霉素(250 mg <i>bid</i>)	-	美沙拉嗪、激素、硫唑嘌呤
Rutgeerts等 ^[48] , 2005	80	1年	奥硝唑(1 g/d)	安慰剂	1年时, 奥硝唑效果优于安慰剂组
静止期CD					
Afdhal等 ^[35] , 1991	49	12 mo	氯法齐明(100 mg/d)		
	强的松		单独无效, 可联合其他药物发挥作用		
Prantera等 ^[38] , 1994	40	9 mo	利福平(600 mg/d)+乙胺丁醇(15 mg/(kg·d))+氯苯酚(100 mg/d每周使用6天)+氯法齐明(100 mg 每2周使用1次)	安慰剂	泼尼松龙
					对CD诱导维持缓解有很好疗效
Selby等 ^[8] , 2007	213	52 wk	克拉霉素(750 mg/d)+利福布丁(450 mg/d)+氯法齐明(50 mg/d)	安慰剂	16 wk, 抗生素联合激素治疗, 疗效优于对照组, 撤出激素, 2年内无意义
瘘管					
West等 ^[49] , 2004	22	12 wk	环丙沙星(500 mg <i>bid</i>)	安慰剂	IFX (5mg/kg)
Thia等 ^[25] , 2009	25	10 wk	甲硝唑 (500 mg <i>bid</i>), 环丙沙星(500 mg <i>bid</i>)	安慰剂	-
Maeda等 ^[27] , 2010	74	10 wk	10%甲硝唑油膏(0.7 g <i>tid</i>)	安慰剂	-
					有良好的耐受性和较少的不良反应, 对CD肛周流脓和肛周疼痛有良好的治疗作用

证实甲硝唑与奥硝唑对减少CD术后复发有疗效。且使用甲硝唑3 mo后再使用硫唑嘌呤治疗1年的一项随机对照实验发现治疗组较安慰剂内镜复发率明显降低^[23]。这些药物治疗的有效性对CD患者术后复发提供了更多的选择。但术后维持往往需要长期用药, 抗生素的不良反应限制了其长期使用。仍需要进一步研究发掘新的药物, 或者几种药物联用减少不良反应, 从而获得最大的治疗效应。

1.3.3 早晚、剂量及时间长短: 目前公认术后复发与细菌或其产物是有密切关联的。术后回盲瓣的缺失, 导致细菌易定植小肠, 可能是复发的主要原因。体外再灌注实验发现术后8-10 d, 肠道炎症容易再次复发, 并且一旦出现狭窄、穿孔等并发症, 难以逆转治愈。因此, 提倡术后早期使用抗生素治疗。

抗结核药物治疗有效性的争议就存在于是是否应用了最佳剂量。广谱抗菌药在临床治疗时同样存在这个问题。Prantera等^[45]对83例CD活动期患者按利福昔明(800 mg *qd*)、利福昔明(400 mg *bid*)及安慰剂分3组治疗, 结果发现3组缓解率分别为32%、52%、33%, 无效率为12%、4%、33%。利福昔明分次服用效果更佳。另一个多中心、随机、双盲的410例中度活性CD患者, 分为利福昔明-EIR(rifaximin extended intestinal release)400、800、1200 mg, 两次/d, 与安慰剂组对比, 800 mg组明显高于安慰剂^[52]。可见同一抗生素不同剂量, 不同服用方法所达到的效果是不一样的。这也为后续筛选抗生素的有效剂量、给药途径、服用方法提供了启示。还有大量研究证实抗生素在诱导和维持CD缓解的时间为一年, 延长使用时间并不会使患者多获益。

■应用要点

本文综述了目前近几年抗生素治疗CD的最新进展, 包括CD治疗时抗生素使用的选择及应用范围, 发现目前关于抗生素治疗CD的研究仍属经验性研究, 需要多中心随机对照实验及针对最大限度发挥抗生素疗效而设计合理、精确的实验来证实其疗效。

■同行评价
本文有一定指导
意义。

1.3.4 联合使用: 由于各个药物的抗菌谱不一, 且目前尚未发现CD发病的特异细菌, 因此药物的不良反应使得临床治疗选择方案时需注意联合用药。在CD的治疗中, 无论是多种抗生素联合使用, 还是抗生素与一些经典的传统治疗手段联合应用, 其机制和安全性尚缺乏足够的多中心随机双盲临床对照试验证实。因此, 对于如何联用抗生素及其剂量和疗程等问题, 尚需进一步探讨和研究。

1.3.5 不良反应: 抗生素治疗失败最常见的原因是由于药物的不良反应导致患者不能很好的耐受。除甲硝唑能引发不可逆神经损伤, 环丙沙星可引起伪膜性肠炎等, 抗生素治疗CD最引人关注的是CD的感染, 最常见的是此细菌引起的相关性腹泻(*Clostridium difficile* associated diarrhea, CDAD)。近年来, 氟奎诺酮类药物已被证实是引发CDAD的主要原因。对美国1998-2004年所有炎症性肠病(*inflammatory bowel disease*, IBD)与非IBD人群中的CDAD进行比较的研究中, 发现IBD人群明显高于非IBD。2004年IBD患者中CDAD发病率为1.8%, 到2005年已上升至4.6%。CDAD是抗生素相关性腹泻的主要原因, 具有较高的住院率及死亡率, 还会增加CD的复发风险。因此, 使用抗生素的CD患者需警惕此并发症的发生。关于抗生素的各项研究虽然指出此类不良反应, 但都简单提及, 缺乏对CD患者抗生素治疗后引发的并发症的系统回顾及Meta分析。

1.3.6 我国现状: 我国现缺乏抗生素治疗CD的临床研究。原因可能由于CD的发病率较低, 临床医师缺乏对该病的正确认识。且由于其症状与感染性疾病、结核性肠炎相似, 临床诊断、治疗上常存在误诊误治, 使得CD临床资料较少。现我国来自多中心的大宗抗生素治疗CD的报道匮乏, 大多是单一中心的少量甚至个别的病例报道。而这些少量的案例也对因治疗CD的抗生素认识的缺乏, 不足以作为我国CD患者选用抗生素的循证医学证据。由于CD患者临床表现与感染性肠炎有相似之处, 且常并发脓肿等并发症, 因此我国治疗CD时多经验性的应用抗生素。

2 关于抗生素用于CD治疗的意见指南

2.1 欧洲克罗恩病和溃疡性结肠炎组织(*European Crohn's and Colitis Organisation*, ECCO)诊断和治疗CD意见(2010年) 轻中度回盲部CD由于不良反应不推荐使用抗生素。而重度CD使用时则要注意并发症。当影像学证实有脓肿, 或发

热, 腹部有压痛时可考虑使用抗生素。腹腔脓肿应予抗生素、穿刺引流; 若出现梗阻时需手术, 梗阻症状控制后, 建议使用抗生素治疗。由于缺乏证据, 并不推荐抗生素用于维持缓解治疗, 亦不推荐抗结核药物治疗CD^[53]。

2.2 英国胃肠病学会(*the British Society of Gastroenterology*, BSG)关于IBD药物治疗指南(2010年) 抗生素对CD并发症有重要作用, 例如脓肿和细菌过度生长, 也有部分证据证实环丙沙星、甲硝唑对CD预防复发, 治疗肛周疾病有作用。另外环丙沙星治疗活动期CD疗效与美沙拉嗪和糖皮质激素相似。但需警惕甲硝唑和环丙沙星的不良反应。抗结核药物同ECCO^[54]。

2.3 世界胃肠病学组织(*World Gastroenterology Organization*)关于IBD诊断及治疗的实践指南(2010年) 甲硝唑和环丙沙星是CD最常用的抗生素, 可用于治疗CD并发症(肛周疾病、瘘管、炎性肿块、狭窄部位、细菌过度生长)。尚无随机对照实验证实两者对瘘管有效, 但两者(单独或联合)可作为一线治疗药物。若长期使用, 需警惕不良反应。两者可增加难辨梭状菌感染的风险, 当患者出现腹泻时需粪检细菌。由于甲硝唑价格低廉, 可在医疗资源匮乏时使用防止CD术后复发^[55]。

2.4 美国胃肠病学会炎症性肠病小组(*American College of Gastroenterology IBD Task Force*)年关于IBD药物治疗指南(2011) 活动期CD: 尽管有研究提出抗生素对活动性CD有治疗作用, 但是仍不推荐其作为一种常规治疗应用于CD活动期(推荐指数: 弱, 证据: 低)。肛周瘘管: 抗生素(主要是甲硝唑、环丙沙星)能有效地改善症状, 但由于缺乏循证医学证据, 仍不推荐使用(推荐指数: 弱, 证据: 低)。静止期CD预防复发: 现在的循证医学证据主要集中在抗结核药物, 临床研究虽然证实其能预防复发, 但样本过小, 缺乏与其他药物对照。现有证据不足以推荐其常规使用, 但可能对个别患者有用, 需注意抗生素耐药情况(推荐指数: 弱, 证据: 非常低)^[56]。

2.5 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组关于炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012, 广州) 中度活动性CD: 环丙沙星及/或甲硝唑仅用于合并感染; 重度活动性CD: 合并感染者予广谱抗菌药或环丙沙星和/或甲硝唑; 有症状的单纯性肛瘘以及复杂性肛瘘者首选抗菌药物如环丙沙星和/或甲硝唑治疗, 并以AZA或6-MP维持治疗。肛瘘并发脓肿时可予抗菌药物治疗。术后复

发, 咪唑类抗菌药物有一定疗效; 甲硝唑有报道使用, 但长期服用患者多不能耐受^[57]。

3 现有的研究与指南推荐不一致

虽然已有研究证实抗生素对活动期CD、静止期CD、预防术后复发、肛周瘘管并发症等都有疗效, 但抗生素目前仍只被推荐用于有感染并发症的CD患者。由于现在的研究多为小样本、单中心、短时效的研究(表2), 结果充满争议, 很难将他们中的有利结果推广应用于临床, 是目前研究与指南不一样的原因。

4 结论

抗生素要发挥疗效需要涵括对致病菌的有效覆盖、正确的给药途径、正确的剂量、有效的联合以达到发挥治疗效果最优, 而不良反应最小。目前CD的关于抗生素的治疗研究仍属经验性的、单纯粗浅的研究。CD本身发病机制不清, 菌群与肠道免疫的相互作用在CD发病中的作用不明也限制了临床研究的开展。进一步的临床研究需要扩大样本量, 扩展多中心的随机对照实验, 还需要针对最大限度发挥抗生素疗效而设计合理、精确的实验。

目前的CD抗生素治疗尚属经验治疗。肛周疾病、感染并发症出现时抗生素的使用获得肯定。但维持时间、最佳剂量、是否需要与其他治疗联用以及长期使用可能带来的不良影响及耐药性, 仍需进一步探讨。而活动期CD、维持缓解、术后复发的预防这些方面, 抗生素是否需要及种类、剂量、时间的选择, 仍需更多的理论支撑及循证医学证据。因此临床应用抗生素治疗CD, 需谨慎合理, 强调个体化治疗。我国现缺乏CD患者的可靠的流行病学资料, CD抗生素治疗的报道更是缺乏。为合理使用药物治疗CD, 我们需要进一步完善CD资料, 增加对CD处理方式的报道, 并适当的开展一系列临床研究。

5 参考文献

- 1 Pranter C, Scribano ML. Antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease: why, when, and how. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 329-333 [PMID: 19444096 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32832b20bf]
- 2 Vermeire S, Ferrante M, Rutgeerts P. Recent advances: Personalised use of current Crohn's disease therapeutic options. *Gut* 2013; 62: 1511-1515 [PMID: 24037876 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303958]
- 3 Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566 [PMID: 21350704 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.557]

- 4 Macfarlane S, Steed H, Macfarlane GT. Intestinal bacteria and inflammatory bowel disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46: 25-54 [PMID: 19107650 DOI: 10.1080/10408360802485792]
- 5 De Hertogh G, Aerssens J, Geboes KP, Geboes K. Evidence for the involvement of infectious agents in the pathogenesis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 845-852 [PMID: 18240341]
- 6 Dalziel T. Chronic interstitial enteritis. *BMJ* 1913; 2: 1068-1070
- 7 Mendoza JL, Lana R, Díaz-Rubio M. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and its relationship with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 417-422 [PMID: 19152445 DOI: 10.3748/wjg.15.417]
- 8 Selby W, Pavli P, Crotty B, Florin T, Radford-Smith G, Gibson P, Mitchell B, Connell W, Read R, Merrett M, Ee H, Hetzel D. Two-year combination antibiotic therapy with clarithromycin, rifabutin, and clofazimine for Crohn's disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 2313-2319 [PMID: 17570206 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.031]
- 9 Peyrin-Biroulet L, Neut C, Colombel JF. Anti-mycobacterial therapy in Crohn's disease: game over? *Gastroenterology* 2007; 132: 2594-2598 [PMID: 17570230 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.027]
- 10 Borody TJ, Heifets LB. Severe recurrent Crohn's disease of ileocolonic anastomosis and antimicrobial (anti-mycobacterial) therapy. *Gut* 2006; 55: 1211 [PMID: 16849357]
- 11 Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008; 134: 577-594 [PMID: 18242222 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.059]
- 12 Kale-Pradhan PB, Zhao JJ, Palmer JR, Wilhelm SM. The role of antimicrobials in Crohn's disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 281-288 [PMID: 23445237 DOI: 10.1586/egh.13.6]
- 13 Khan KJ, Ullman TA, Ford AC, Abreu MT, Abadir A, Marshall JK, Talley NJ, Moayyedi P. Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 661-673 [PMID: 21407187 DOI: 10.1038/ajg.2011.72]
- 14 Small CL, Reid-Yu SA, McPhee JB, Coombes BK. Persistent infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive Escherichia coli leads to chronic inflammation and intestinal fibrosis. *Nat Commun* 2013; 4: 1957 [PMID: 23748852 DOI: 10.1038/ncomms2957]
- 15 Leiper K, Martin K, Ellis A, Watson AJ, Morris AI, Rhodes JM. Clinical trial: randomized study of clarithromycin versus placebo in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 1233-1239 [PMID: 18315579 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03661.x]
- 16 Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (1): CD003459 [PMID: 15674908]
- 17 Herfarth HH, Katz JA, Hanauer SB, Sandborn WJ, Loftus EV, Sands BE, Galanko JA, Walkup D, Isaacs KL, Martin CF, Sandler RS, Sartor RB. Ciprofloxacin for the prevention of postoperative recurrence in patients with Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1073-1079 [PMID: 23511031 DOI: 10.1097/01.MIB.0000428910.36091.10]
- 18 Mattila E, Arkkila P, Mattila PS, Tarkka E, Tissari

- P, Anttila VJ. Rifaximin in the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 122-128 [PMID: 23095030 DOI: 10.1111/apt.12111]
- 19 Isaacs KL. Rifaximin in IBD: is it time to beat back the bugs as induction therapy in Crohn's disease? *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 457-458 [PMID: 23314246 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318280fcf5]
 - 20 Zullo A, Ridola L, Hassan C. Rifaximin therapy and *Clostridium difficile* infection: a note of caution. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 737 [PMID: 23507769 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31828bea4b]
 - 21 Mirow L, Hauenschild L, Hildebrand P, Kleemann M, Keller R, Franke C, Roblick UJ, Bruch HP, Kujath P. [Recurrence of Crohn's disease after surgery-causes and risks]. *Zentralbl Chir* 2008; 133: 182-187 [PMID: 18415909 DOI: 10.1055/s-2008-1004743]
 - 22 Swoger JM, Regueiro M. Preventive therapy in postoperative Crohn's disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 337-343 [PMID: 20571386 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328338f724]
 - 23 D'Haens GR, Vermeire S, Van Assche G, Noman M, Aerden I, Van Olmen G, Rutgeerts P. Therapy of metronidazole with azathioprine to prevent postoperative recurrence of Crohn's disease: a controlled randomized trial. *Gastroenterology* 2008; 135: 1123-1129 [PMID: 18727929 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.07.010]
 - 24 Hvas CL, Dahlerup JF, Jacobsen BA, Ljungmann K, Qvist N, Staun M, Tøttrup A. Diagnosis and treatment of fistulising Crohn's disease. *Dan Med Bull* 2011; 58: C4338 [PMID: 21975159]
 - 25 Thia KT, Mahadevan U, Feagan BG, Wong C, Cockeram A, Bitton A, Bernstein CN, Sandborn WJ. Ciprofloxacin or metronidazole for the treatment of perianal fistulas in patients with Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 17-24 [PMID: 18668682 DOI: 10.1002/ibd.20608]
 - 26 Savoye-Collet C, Savoye G, Koning E, Dacher JN, Lerebours E. Fistulizing perianal Crohn's disease: contrast-enhanced magnetic resonance imaging assessment at 1 year on maintenance anti-TNF-alpha therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1751-1758 [PMID: 21744430 DOI: 10.1002/ibd.21568]
 - 27 Maeda Y, Ng SC, Durdey P, Burt C, Torkington J, Rao PK, Mayberry J, Moshkovska T, Stone CD, Carapeti E, Vaizey CJ. Randomized clinical trial of metronidazole ointment versus placebo in perianal Crohn's disease. *Br J Surg* 2010; 97: 1340-1347 [PMID: 20632322 DOI: 10.1002/bjs.7121]
 - 28 Blichfeldt P, Blomhoff JP, Myhre E, Gjone E. Metronidazole in Crohn's disease. A double blind cross-over clinical trial. *Scand J Gastroenterol* 1978; 13: 123-127 [PMID: 345410 DOI: 10.3109/00365527809179816]
 - 29 Elliott PR, Burnham WR, Berghouse LM, Lennard-Jones JE, Langman MJ. Sulphadoxine-pyrimethamine therapy in Crohn's disease. *Digestion* 1982; 23: 132-134 [PMID: 7047267 DOI: 10.1159/000198703]
 - 30 Ursing B, Alm T, Bárány F, Bergelin I, Ganrot-Norlin K, Hoevels J, Huitfeldt B, Järnerot G, Krause U, Krook A, Lindström B, Nordle O, Rosén A. A comparative study of metronidazole and sulfasalazine for active Crohn's disease: the cooperative Crohn's disease study in Sweden. II. Result. *Gastroenterology* 1982; 83: 550-562 [PMID: 6124474]
 - 31 Rosén A, Ursing B, Alm T, Bárány F, Bergelin I, Ganrot-Norlin K, Hoevels J, Huitfeldt B, Järnerot G, Krause U, Krook A, Lindström B, Nordle O. A comparative study of metronidazole and sulfasalazine for active Crohn's disease: the cooperative Crohn's disease study in Sweden. I. Design and methodologic considerations. *Gastroenterology* 1982; 83: 541-549 [PMID: 6124473]
 - 32 Shaffer JL, Hughes S, Linaker BD, Baker RD, Turnberg LA. Controlled trial of rifampicin and ethambutol in Crohn's disease. *Gut* 1984; 25: 203-205 [PMID: 6363219 DOI: 10.1136/gut.25.2.203]
 - 33 Ambrose NS, Allan RN, Keighley MR, Burdon DW, Youngs D, Barnes P, Lennard-Jones JE. Antibiotic therapy for treatment in relapse of intestinal Crohn's disease. A prospective randomized study. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 81-85 [PMID: 3882364]
 - 34 Basilisco G, Ranzi T, Campanini M, Piodi L, Bianchi P. Controlled trial of rifabutin in Crohn's disease. *Current Therapeutic Research* 1989; 46: 245-250
 - 35 Afdhal NH, Long A, Lennon J, Crowe J, O'Donoghue DP. Controlled trial of antimycobacterial therapy in Crohn's disease. Clofazimine versus placebo. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 449-453 [PMID: 2007362 DOI: 10.1007/BF01298873]
 - 36 Sutherland L, Singleton J, Sessions J, Hanauer S, Krawitt E, Rankin G, Summers R, Mekhjian H, Greenberger N, Kelly M. Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut* 1991; 32: 1071-1075 [PMID: 1916494 DOI: 10.1136/gut.32.9.1071]
 - 37 Swift GL, Srivastava ED, Stone R, Pullan RD, Newcombe RG, Rhodes J, Wilkinson S, Rhodes P, Roberts G, Lawrie BW. Controlled trial of anti-tuberculous chemotherapy for two years in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35: 363-368 [PMID: 8150348 DOI: 10.1136/gut.35.3.363]
 - 38 Prantera C, Kohn A, Mangiarotti R, Andreoli A, Luzi C. Antimycobacterial therapy in Crohn's disease: results of a controlled, double-blind trial with a multiple antibiotic regimen. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 513-518 [PMID: 8147352]
 - 39 Prantera C, Zannoni F, Scribano ML, Berto E, Andreoli A, Kohn A, Luzi C. An antibiotic regimen for the treatment of active Crohn's disease: a randomized, controlled clinical trial of metronidazole plus ciprofloxacin. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 328-332 [PMID: 8607501]
 - 40 Colombel JF, Lémann M, Cassagnou M, Bouhnik Y, Duclos B, Dupas JL, Notteghem B, Mary JY. A controlled trial comparing ciprofloxacin with mesalazine for the treatment of active Crohn's disease. Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives (GETAID). *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 674-678 [PMID: 10086650]
 - 41 Leiper K, Morris AI, Rhodes JM. Open label trial of oral clarithromycin in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 801-806 [PMID: 10848665 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00753.x]
 - 42 Goodgame RW, Kimball K, Akram S, Ike E, Ou CN, Sutton F, Graham D. Randomized controlled trial of clarithromycin and ethambutol in the treatment of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1861-1866 [PMID: 11736715 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.01099.x]
 - 43 Arnold GL, Beaves MR, Pryjduin VO, Mook WJ. Preliminary study of ciprofloxacin in active Crohn's

- disease. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 10-15 [PMID: 11837933 DOI: 10.1097/00054725-200201000-00002]
- 44 Steinhart AH, Feagan BG, Wong CJ, Vandervoort M, Mikolainis S, Croitoru K, Seidman E, Leddin DJ, Bittan A, Drouin E, Cohen A, Greenberg GR. Combined budesonide and antibiotic therapy for active Crohn's disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2002; 123: 33-40 [PMID: 12105831 DOI: 10.1053/gast.2002.34225]
 - 45 Prantera C, Lochs H, Campieri M, Scribano ML, Sturniolo GC, Castiglione F, Cottone M. Antibiotic treatment of Crohn's disease: results of a multicentre, double blind, randomized, placebo-controlled trial with rifaximin. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1117-1125 [PMID: 16611272 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02879.x]
 - 46 Prantera C, Lochs H, Grimaldi M, Danese S, Scribano ML, Gionchetti P. Rifaximin-extended intestinal release induces remission in patients with moderately active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2012; 142: 473-481.e4 [PMID: 22155172]
 - 47 Rutgeerts P, Hiele M, Geboes K, Peeters M, Penninckx F, Aerts R, Kerremans R. Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection. *Gastroenterology* 1995; 108: 1617-1621 [PMID: 7768364 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90121-3]
 - 48 Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S, D'Haens G, Baert F, Noman M, Aerden I, De Hertogh G, Geboes K, Hiele M, D'Hoore A, Penninckx F. Ornidazole for prophylaxis of postoperative Crohn's disease recurrence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2005; 128: 856-861 [PMID: 15825069 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.01.010]
 - 49 West RL, van der Woude CJ, Hansen BE, Felt-Bersma RJ, van Tilburg AJ, Drapers JA, Kuipers EJ. Clinical and endosonographic effect of ciprofloxacin on the treatment of perianal fistulae in Crohn's disease with infliximab: a double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1329-1336 [PMID: 15606395 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02247.x]
 - 50 Bellavia M, Tomasello G, Romeo M, Damiani P, Lo Monte AI, Lozio L, Campanella C, Marino Gammazza A, Rappa F, Zummo G, Cocchi M, Conway de Macario E, Macario AJ, Cappello F. Gut microbiota imbalance and chaperoning system malfunction are central to ulcerative colitis pathogenesis and can be counteracted with specifically designed probiotics: a working hypothesis. *Med Microbiol Immunol* 2013; 202: 393-406 [PMID: 23864544 DOI: 10.1007/s00430-013-0305-2]
 - 51 Sorrentino D, Fogel S, Van den Bogaerde J. Surgery for Crohn's disease and anti-TNF agents: the changing scenario. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 689-700 [PMID: 24161133]
 - 52 Prantera C, Lochs H, Grimaldi M, Danese S, Scribano ML, Gionchetti P; Retic Study Group (Rifaximin-Extended Intestinal Release Induces Remission of Patients with Moderately Active Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2012; 142: 473-481
 - 53 Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF, Danese S, D'Hoore A, Gassull M, Gomollón F, Hommes DW, Michetti P, O'Morain C, Oresland T, Windsor A, Stange EF, Travis SP. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 28-62 [PMID: 21122489 DOI: 10.1016/j.crohns.2009.12.002]
 - 54 Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R, Mitton S, Orchard T, Rutter M, Younge L, Lees C, Ho GT, Satsangi J, Bloom S. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut* 2011; 60: 571-607 [PMID: 21464096 DOI: 10.1136/gut.2010.224154]
 - 55 Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfertheiner Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 112-124 [PMID: 19653289 DOI: 10.1002/ibd.21048]
 - 56 Talley NJ, Abreu MT, Achkar JP, Bernstein CN, Dubinsky MC, Hanauer SB, Kane SV, Sandborn WJ, Ullman TA, Moayyedi P. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106 Suppl 1: S2-S25; quiz S26 [PMID: 21472012]
 - 57 冉志华. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州)克罗恩病诊断的部分解读. *胃肠病学* 2012; 17: 721-723

编辑 田滢 电编 鲁亚静



异常凝血酶 DCP 基因克隆表达、纯化及单克隆抗体制备与鉴定

沈鹏, 司进, 李琦雯, 渠利利, 李璐蓉, 严晓璐, 季国忠

■背景资料

肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是一种常见的恶性肿瘤, 其死亡率很高。肝癌的早期诊断是治疗能否取得成功的关键, 而临床上甲胎蛋白 (α -fetoprotein, AFP) 诊断肝癌仍存在一定的不足, 所以寻找新的有助早期诊断 HCC 血清标志物一直是备受关注的研究热点。

沈鹏, 李璐蓉, 严晓璐, 季国忠, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

司进, 李琦雯, 渠利利, 南京医科大学第二附属医院检验科 江苏省南京市 210011

沈鹏, 在读硕士, 主要从事肝癌早期诊断多联快速胶体金试纸条的研制及性能评价。

南京市科技发展计划基金资助项目, No. 201104029

江苏省医学重点人才基金资助项目, No. RC2011081

南京市医学科技发展基金资助项目, No. ZKX11176

作者贡献分布: 沈鹏、司进及季国忠对此文所作贡献均等; 此课题由季国忠、沈鹏及司进设计; 研究过程由季国忠、沈鹏、司进、李琦雯、渠利利、李璐蓉及严晓璐操作完成; 研究所用试剂与分析工具由季国忠提供; 数据分析由沈鹏完成; 论文写作由沈鹏、司进及季国忠完成。

通讯作者: 季国忠, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所。jgzl@163.com
电话: 025-58509996

收稿日期: 2013-09-05 修回日期: 2013-10-21

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Human des- γ -carboxy prothrombin: Cloning, expression and monoclonal antibody preparation

Peng Shen, Jin Si, Qi-Wen Li, Li-Li Qu, Lu-Rong Li, Xiao-Lu Yan, Guo-Zhong Ji

Peng Shen, Lu-Rong Li, Xiao-Lu Yan, Guo-Zhong Ji, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Jin Si, Qi-Wen Li, Li-Li Qu, Department of Laboratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Supported by: the Science and Technology Development Project of Nanjing, No. 201104029; the Medical Key Talent Foundation of Jiangsu Province, No. RC2011081; and the Medical Science and Technology Development Program of Nanjing, No. ZKX11176

Correspondence to: Guo-Zhong Ji, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiguan District, Nanjing 210011, China. jgzl@163.com

Received: 2013-09-05 Revised: 2013-10-21

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To clone and express human des- γ -carboxy

prothrombin (DCP), a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma (HCC), and to prepare the monoclonal antibody (mAb) against DCP.

METHODS: The DCP gene was cloned into the prokaryotic expression vector pCold II. The recombinant construct was expressed in BL21 *Escherichia coli* strain, and the recombinant protein with an N-terminal 6-His tag was purified by nickel chelate-nitrilotriacetic-acid (Ni-NTA) affinity chromatography. The purified protein was used to immunize the Balb/c mice for mAb preparation. The sensitivity and specificity of the mAb were assessed by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS: The recombinant DCP protein was successfully expressed and purified, and its molecular weight was approximately 23 kDa. One hybridoma cell line stably secreting anti-DCP monoclonal antibody named 3B5 was obtained. Western blot analysis and immunohistochemistry indicated that the DCP mAb showed specific combination with DCP. ELISA detection indicated that the titer of the mAb was $1:2.43 \times 10^5$. The immunoglobulin isotype of the mAb was identified as IgG2a.

CONCLUSION: The successful preparation of DCP mAb may lay a solid foundation for the research of the use of DCP in early diagnosis of HCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Des- γ -carboxy prothrombin; Monoclonal antibody; Hybridoma technique; Hepatocellular carcinoma; Tumor markers

Shen P, Si J, Li QW, Qu LL, Li LR, Yan XL, Ji GZ. Human des- γ -carboxy prothrombin: Cloning, expression and monoclonal antibody preparation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3932-3939 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3932.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3932>

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

摘要

目的:通过克隆、表达一种有前景的肝癌肿瘤标志物人去羧基凝血素(Des- γ -carboxy prothrombin, DCP),制备抗DCP单克隆抗体并初步鉴定其特性。

方法:依据DCP基因序列,合成DCP全长基因,构建原核表达载体pCold II-DCP,转化至*Escherichia coli* BL21(DE3),IPTG诱导表达,以Ni²⁺亲和层析柱纯化带有His标签的DCP蛋白。纯化的蛋白免疫Balb/c小鼠,制备抗DCP单克隆抗体。以ELISA法检测抗体效价与亚型;Western blot和免疫组织化学染色鉴定抗体特异性。

结果:成功表达并获得DCP蛋白,其相对分子量约为23000;获得1株稳定分泌抗人DCP单克隆抗体杂交瘤细胞株3B5;Western blot和免疫组织化学结果显示抗人DCP单克隆抗体能与DCP发生特异性结合,且ELISA检测抗体的效价为1:2.43×10⁵,其亚类为IgG2a。

结论:成功制备了抗人DCP单克隆抗体,为进一步将该抗体应用于肝癌的早期诊断提供了重要工具。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:异常凝血酶原;原核表达;杂交瘤技术;单克隆抗体;肝细胞肝癌;肿瘤标志物

核心提示:本文以pCold II原核表达载体诱导表达纯化6×His标签的人去羧基凝血素(Des- γ -carboxy prothrombin, DCP)重组蛋白,为今后规模化生产提供基础;并最终获得1株持续稳定分泌抗DCP mAb杂交瘤细胞株,成功制备了效价高、特异性好的鼠抗人DCP单克隆抗体,并检测了肝细胞肝癌中的DCP的表达。

沈鹏, 司进, 李琦雯, 渠利利, 李璐蓉, 严晓璐, 季国忠. 异常凝血酶DCP基因克隆表达、纯化及单克隆抗体制备与鉴定. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3932-3939 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3932.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3932>

0 引言

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种常见的恶性肿瘤,其死亡率很高。在我国,肝癌的死亡率占恶性肿瘤的第2位,占全球肝癌死亡人数的53%^[1],肝癌的发生发展是一个涉及多阶段、多因素的复杂过程,除了依赖于肿瘤

细胞自身以外,肿瘤周围的局部微环境也起着重要的作用^[2]。在我国,HCC主要和乙型肝炎病毒感染、肝硬化相关。有典型临床症状的就诊患者,往往已届晚期,肝癌的早期诊断是治疗能否取得成功的关键,而每年一次的血清甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)测定和B型超声检查是肝癌普查的基本措施^[3,4]。目前,AFP是临床上诊断HCC最常用的血清肿瘤标志物,但是AFP在一些良性肝病、部分生殖系统和胃肠道的恶性肿瘤中也会升高,诊断肝癌仍存在一定的缺陷^[5,6],所以寻找新的有助早期诊断HCC血清标志物一直是备受关注的研究热点。

Liebman等^[7]在1984年首次报道了人去羧基凝血素(Des- γ -carboxy prothrombin, DCP)水平升高存在于91%的肝癌患者血清中。DCP即异常凝血酶原,与正常凝血酶原区别在于其氨基酸特定位置上的谷氨酸残基未经羧基化。当肝细胞发生癌变时,内质网不能将DCP羧化成有活性的凝血酶原,从而使DCP含量升高。DCP在临床上是一个具有很好应用前景的肝癌血清标志物,如果作为AFP诊断HCC的补充指标,将能改善HCC的早期诊断。

关于DCP蛋白的生物学功能研究已经全面开展,亟需高质量的抗体。虽然DCP被发现时间较久,国外已有抗体,但是价格昂贵,而且目前国内对于抗DCP抗体制备的报道较少。因为DCP单克隆抗体的生产会受到如抗原的免疫原性低、复性困难的限制等原因,难以规模化扩大生产,不适合其推广使用。为此,本研究拟通过构建DCP原核表达载体,表达、纯化DCP重组蛋白,免疫小鼠,获得一株能稳定分泌抗人DCP单抗的杂交瘤细胞。经ELISA及Western blot等多种手段对所得的单克隆抗体进行生物学特性分析,制备出具有良好特异性和效价的抗DCP mAb,为进一步研究DCP在肝癌发生发展中的作用机制以及为后期肝癌早期诊断试剂条的开发奠定了良好的实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 质粒pCold II、菌株大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)宿主菌DH5 α 和BL21(DE3)、小鼠骨髓瘤细胞株(Sp2/0)由本实验室保存;实验动物Balb/c小鼠(6-8周龄,♀,SPF清洁级)购自南京医科大学实验动物中心;胎牛血清购自美国Invitrogen公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG抗体购自北京中杉金桥生物技术有

■研究前沿

人去羧基凝血素(Des- γ -carboxy prothrombin, DCP)在临床上是一个具有很好应用前景的肝癌血清标志物。虽然DCP被发现时间较久,国外已有抗体,但是价格昂贵,而且DCP抗体的生产会受到如抗原的免疫原性低、复性困难的限制等原因,难以规模化扩大生产,不适合其推广使用。关于DCP蛋白的生物学功能研究已经全面开展,亟需高质量的抗体。

■相关报道

Gao等关于DCP的Meta分析中,可以看出DCP是一个可以与AFP相媲美的肝癌肿瘤标志物。

限公司;标准蛋白Marker、Taq DNA聚合酶、T4 DNA连接酶购自美国Fermentas公司、限制性内切酶*Nde* I和*Hind* III购自TaKaRa公司;ECL试剂盒、Protein A琼脂糖亲和层析柱、Ni-NTA琼脂糖柱购自GE Healthcare公司;弗氏完全佐剂和不完全佐剂、免疫球蛋白标准亚类鉴定试剂盒、细胞培养基均为美国Sigma产品;BCA蛋白定量试剂盒购自凯基公司;引物由南京钟鼎生物有限责任公司合成。

1.2 方法

1.2.1 pCold II-DCP表达载体的构建:依据DCP基因序列,合成DCP基因后,经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测,并对其用限制性内切酶*Nde* I和*Hind* III双酶切的原核表达载体pCold II连接,转化至大肠杆菌*E. coli* DH5 α 中扩增,再转入*E. coli* BL21(DE3)感受态细胞,接种于LB固体培养基中,含氨苄青霉素(Amp)100 mg/L,抽取质粒,进行*Nde* I和*Hind* III酶切鉴定和测序(测序由南京钟鼎生物有限责任公司完成)。

1.2.2 DCP融合蛋白的表达及纯化:挑取含重组质粒pCold II-DCP-BL21的菌落接种于10 mL LB培养基(Amp, 100 mg/L)中,220 r/min 37 °C摇菌过夜,按1:100比例接种于1000 mL的LB培养基(Amp, 100 mg/L)中,相同条件下培养3 h,待菌液达到A₆₀₀时加入IPTG至终浓度为0.5 mmol/L,15 °C、25 °C、37 °C分别振荡培养16 h,诱导培养结束后,收集菌体到50 mL无菌离心管,并分别对不同诱导时间样品行SDS-PAGE电泳,未诱导的工程菌做对照,分析不同诱导温度条件下目的蛋白表达情况,摸索最佳诱导温度。5000 r/min 4 °C离心10 min,弃上清,重悬于20 mL lysis buffer(20 mmol/L Tris-HCl包含1 mmol/L蛋白酶抑制剂混合物,pH 8.0)中,经细胞超声破碎仪破碎(超声2 s、冷却4 s、功率100 W),12000 r/min、4 °C离心15 min后分别收集沉淀和上清,SDS-PAGE分析目的蛋白的可溶情况。沉淀重悬于lysis buffer(含8 mol/L尿素),并经0.22 μ m滤膜过滤,过Ni-NTA层析柱进行纯化;10倍的柱体积lysis buffer(含8 mol/L尿素+20 mmol/L咪唑)洗涤;用buffer C(20 mmol/L Tris-HCl buffer,pH 8.0,含150 mmol/L NaCl,8 mol/L尿素,250 mmol/L咪唑)洗脱目的蛋白。将洗脱的蛋白,用含有一定浓度梯度的尿素(6、5、4、2、1 mol/L)进行复性,最终用PBS透析。透析完成后冻干浓缩蛋白,测定浓度为1.5 mg/mL,后进行SDS-PAGE分析。

1.2.3 动物免疫:取6只6-8周龄体重为18-20 g

的Balb/c小鼠,首次免疫时将纯化的DCP蛋白与等体积弗氏完全佐剂完全混合乳化,经左下腹注射,剂量为100 μ g/只,以后每隔2 wk取同等剂量的抗原和等体积的弗氏不完全佐剂加强免疫,共计4次。第4次加强免疫1 wk后眼眶采血,间接ELISA法检测小鼠外周血抗DCP抗体的效价。效价高者于融合前3 d用纯化的蛋白尾静脉冲击免疫一次,注射剂量同前。

1.2.4 mAb的制备、纯化与效价测定:(1)杂交瘤细胞的制备:将生长状态良好的Sp2/0骨髓瘤细胞与免疫小鼠脾细胞以1:10的比例混合,加入50%聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)进行融合,融合过程按常规方法进行^[8,9]。用DCP表达蛋白作为检测抗原,对有融合细胞孔的上清液进行间接ELISA检测,一抗为细胞培养上清,二抗为辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG(1:2000稀释),TMB显色检测筛选阳性细胞克隆株。将筛选的阳性细胞克隆株用有限稀释法进行单克隆筛选,间接ELISA法检测,直至阳性率达100%,筛选出稳定分泌抗DCP抗体的杂交瘤细胞株进行扩大培养,并冻存于液氮中;(2)抗体的纯化及效价测定:选择Balb/c经产母鼠,每只腹腔注射灭菌液体石蜡0.5 mL,1 wk后,经腹腔接种杂交瘤细胞0.5 mL(1×10^6 细胞/只),10-14 d后小鼠腹部明显肿胀收集腹水,12000 r/min离心10 min,去除上层的脂肪、液体石蜡和沉淀,吸取淡黄色腹水,将腹水经Protein A琼脂糖亲和层析柱获得纯化抗体,之后在PBS中进行4 °C透析过夜,隔日BCA法测定抗体浓度,ELISA法测定抗体效价,然后加入50%甘油混合,小量分装后-80 °C保存备用。

1.2.5 mAb的生物学特性分析和鉴定:(1)mAb的Ig亚类鉴定:取杂交瘤培养上清,采用ELISA方法进行亚型测定(参照Sigma公司小鼠单克隆抗体亚型检测试剂盒说明书进行);(2)mAb特异性鉴定:将上述表达的DCP蛋白用12%SDS-PAGE凝胶电泳,转移至硝酸纤维素膜,5%脱脂奶粉封闭2 h,应用上述制备的抗DCP mAb为一抗,1:1000稀释,4 °C孵育过夜,TBST洗涤4次,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG(1:8000稀释),37 °C孵育1 h,洗涤,最后凝胶成像仪进行显色,观察结果;(3)mAb效价的检测:将杂交瘤细胞的培养上清,按梯度稀释,经间接ELISA法测定mAb的效价(效价即样品A/空白A \geq 2.1的最高稀释度)。

1.2.6 免疫组织化学法检测及结果判断:取人正

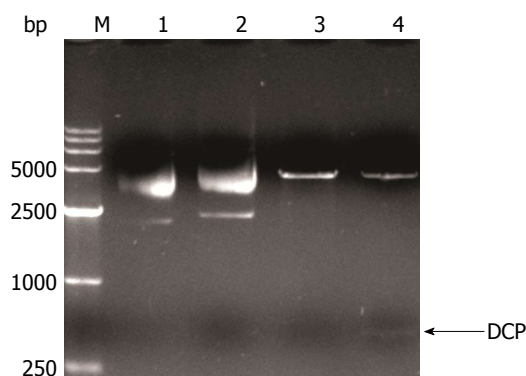


图1 pCold II和pCold II-DCP的酶切鉴定. M: DNA标准品; 1: pCold II质粒; 2: pCold II-DCP重组质粒; 3: 经*Nde* I与*Hind* III双酶切后的pCold II质粒; 4: 经*Nde* I与*Hind* III双酶切后的pCold II-DCP重组质粒. DCP: 去羟基凝血素.

常肝组织及肝癌石蜡组织, 制作4 μ m厚的组织切片进行二甲苯脱蜡, 用0.03% H_2O_2 室温处理切片20 min, 消除内源性过氧化酶的活性, 用血清封闭, DCP一抗(1:400)孵育1 h后, 加生物素标记的第二抗体, 孵育45 min, 加ABC复合物45 min, DAB显色, 观察、记录.

2 结果

2.1 重组质粒pCold II-DCP的构建和鉴定 重组质粒pCold II-DCP经5' *Nde* I 和3' *Hind* III进行双酶切, 出现两条特异性条带, 位置与pCold II和目的片段的大小一致(图1). 测序结果显示目标序列与NCBI(Accession number. NC_000011.9)相应序列相符, 证实表达载体pCold II-DCP构建成功.

2.2 DCP蛋白的诱导表达及纯化

2.2.1 摸索最佳诱导温度选择及DCP蛋白的可溶性分析: 温度对于目的蛋白的表达量以及表达形式有非常重要的影响. 0.5 mmol/L IPTG浓度、诱导16 h相同的条件下, 选取3个不同的温度梯度15 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C和37 $^{\circ}$ C对pCold II-DCP-BL21大肠杆菌进行诱导表达. 诱导后SDS-PAGE(图2)电泳显示: 在15 $^{\circ}$ C、23 kDa处有DCP的表达, 且表达在沉淀中.

2.2.2 DCP蛋白的纯化及复性: 大量诱导经超声破碎, 取其沉淀, 经 Ni^{2+} 亲和层析柱纯化及复性(图3), 并BCA法测定蛋白浓度为1.5 mg/mL, 用BID-RAD quantity one软件分析显示DCP蛋白纯度>80%.

2.3 抗DCP mAb的制备与纯化 取血清抗体效价最高的免疫小鼠的脾细胞与Sp2/0骨髓瘤细胞融合, 采用ELISA法检测细胞培养上清中抗体的分泌情况, 结果初筛10株阳性克隆; 又进行3次单

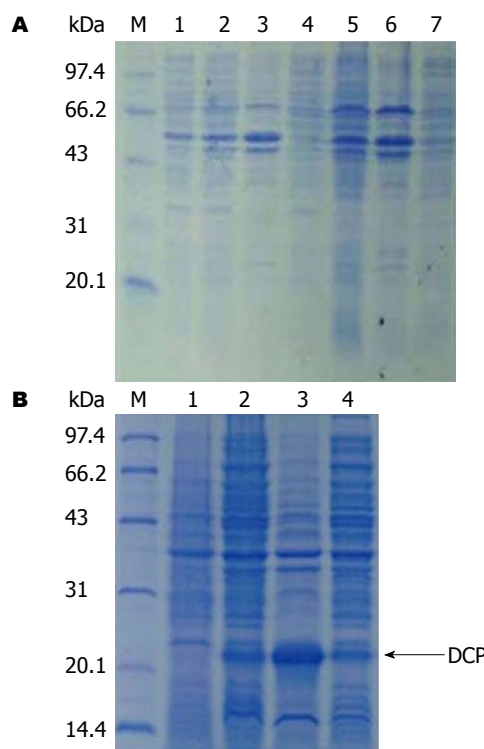


图2 SDS-PAGE分析DCP在37 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C和15 $^{\circ}$ C的表达及可溶性分析. A: DCP在37 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C表达及可溶性分析. M: 蛋白标准品; 1: 诱导前菌液; 2: 37 $^{\circ}$ C诱导后菌液; 3: 37 $^{\circ}$ C诱导超声后沉淀; 4: 37 $^{\circ}$ C诱导超声后上清; 5: 25 $^{\circ}$ C诱导后菌液; 6: 25 $^{\circ}$ C诱导超声后沉淀; 7: 25 $^{\circ}$ C诱导超声后上清; B: DCP在15 $^{\circ}$ C表达及可溶性分析. M: 蛋白标准品; 1: 诱导前菌液; 2: 15 $^{\circ}$ C诱导后菌液; 3: 15 $^{\circ}$ C诱导后菌液; 4: 15 $^{\circ}$ C诱导后上清. 箭头为目的蛋白.

克隆筛选, 直至所有克隆孔的阳性率达100%. 阳性克隆按有限稀释法进行克隆化培养, 筛选出1株稳定分泌特异性抗DCP mAb的杂交瘤细胞株, 命名为3B5, 通过Protein A亲和层析获得纯化的抗体, 电泳结果显示呈清晰的两条带, 分别为免疫球蛋白重链约55 kDa, 轻链约25 kDa(图4), 用BCA法测定纯化的抗体浓度为0.7 mg/mL; 经过3 mo以上代能良好生长, 并稳定分泌抗体.

2.4 抗体亚类、特异性鉴定及效价测定 (1)mAb的Ig亚类鉴定: 应用Sigma单克隆抗体亚类检测试剂盒进行抗体亚类鉴定, 按照说明书酶联免疫捕获法表明其免疫球蛋白亚类为IgG2a; (2)mAb特异性鉴定: 单克隆抗体的特异性通过免疫印迹实验进行验证. 用已获得的抗DCP mAb为一抗, 结果显示, 经诱导后与纯化后的DCP蛋白在23 kDa处各有一条特异的反应条带(图5), 而未经诱导的菌体蛋白没有条带, 证明此单抗特异性针对DCP重组蛋白; (3)mAb效价的检测: 经间接ELISA测定, 小鼠腹水DCP单克隆抗体的效价达1:243000以上(图6).

■创新盘点

本实验选择带有His标签的pCold II低温表达DCP, 蛋白结构稳定, 产量较高, 与天然蛋白相似, 可更好的作为抗原免疫制备高质量抗体.

■应用要点

为进一步研究DCP在肝癌发生发展中的作用机制以及为后期肝癌早期诊断试剂条的开发、ELISA方法或磁酶免疫方法的建立奠定了良好的实验基础。

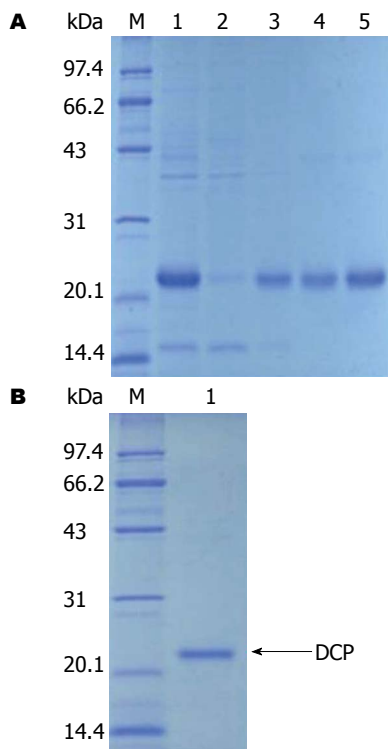


图3 SDS-PAGE分析DCP蛋白的纯化及脱盐。A: DCP蛋白的纯化。M: 蛋白标准品; 1: 超声后沉淀; 2: 流穿液; 3: 洗涤液; 4, 5: 洗涤液; B: 纯化后蛋白的脱盐。M: 蛋白标准品; 1: 透析后的DCP蛋白。DCP: 去羧基凝血素。

2.5 免疫组织化学法检测DCP在肝癌组织中的表达 以抗DCP mAb为一抗, 对正常肝组织及肝癌组织的石蜡切片进行免疫组织化学染色显示(图7), 正常肝组织呈阴性, 而肝癌组织呈阳性反应。

3 讨论

正常凝血酶原是在一种依赖维生素K的 γ 谷氨酰羧化酶的参与下, 将结构中的10个谷氨酸(Glu)残基羧化成 γ -羧基谷氨酸(Gla), 使之成为有活性的凝血酶原。如果上述任何位点的一个或多个Glu残基羧化不全, 都将可能形成异常的凝血酶原(DCP)。当VitK减少时, 无法使肝细胞内质网上的肽链N端的谷氨酸残基羧化成 γ -羧基谷氨酸(Gla), 形成有活性的凝血酶原即以去羧基凝血酶原形式释放入血^[10], 这种去羧基凝血酶原又常被称为VitK缺乏诱导蛋白或异常凝血酶原。当肝细胞发生癌变时, 内质网不能将DCP羧化成有活性的凝血酶原, 从而使血清中DCP含量升高。血清中的DCP水平明显升高除发生在HCC外, 还可见于阻塞性黄疸和肝内胆淤积引起的长期维生素K缺乏或服用维生素K拮抗剂患者。Bertino等^[11]在对肝癌患者用维生素K治疗后, 发现DCP水平降低, 但是AFP水平并不受影响, 提示

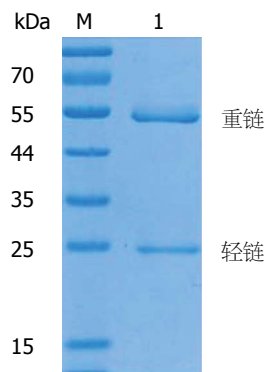


图4 SDS-PAGE分析腹水中抗DCP的单克隆抗体的纯化。M: 蛋白标准品; 1: 纯化的3B5抗体。

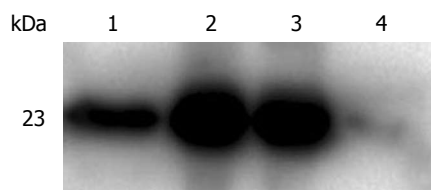


图5 DCP重组蛋白的Western blot鉴定。1: 纯化的DCP蛋白; 2, 3: pCold II-DCP BL21细菌诱导后; 4: pCold II-DCP BL21细菌诱导前。DCP: 去羧基凝血素。

维生素K缺乏可能是导致DCP水平升高一个因素。也有可能是 γ 谷氨酰羧化酶活性降低, 不能使谷氨酸残基羧化成 γ -羧基谷氨酸(Gla), 或者是凝血酶原前体产生过多, 但这些异常的情况可能并不是单独起作用, 而是共同引起DCP水平的升高^[12]。

目前, 临床上筛选早期HCC的肿瘤标志物仍以AFP为主, 但是对于AFP低浓度或阴性的患者容易造成漏诊。故目前急需寻找一种敏感性更高、特异性更强的肿瘤标志物, 建立高效、便捷的检测方法, 来提高HCC的早期诊断率。而DCP对于HCC的诊断是一个有用的肿瘤标志物。近来, 已经进行的几项大规模的病例研究中发现截断点为40 mAU/mL时, DCP诊断HCC的敏感性、特异性和诊断的精确性分别波动于55.9%-87.0%、85.0%-99.8%和59.0%-84.0%^[13]。在1031例样本丙型肝炎抗肝硬化治疗临床试验(hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis, HALT-C)队列研究中, 有学者比较了AFP与DCP在早期诊断肝癌的准确性, 在早期诊断的所有检测时间, 发现DCP有更高的敏感性与特异性, 联合检测可以达到更高的敏感性^[14]。这个结果也与Ertle等^[15]研究结果相符。最近的系统评价表明, DCP作为诊断HCC的血清标志物, 其灵敏度为67%(95%CI: 58%-74%), 特异性为92%(95%CI:

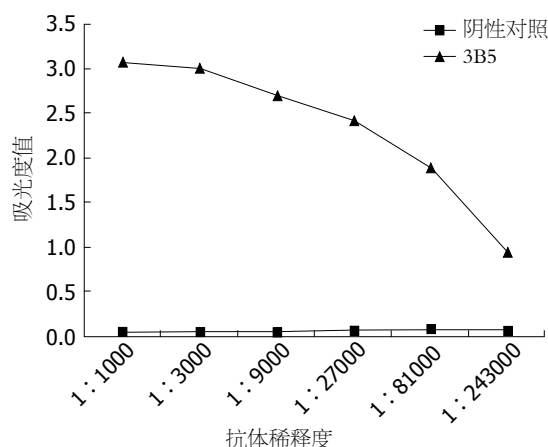


图 6 DCP mAb效价测定。

88%-94%)^[16]。DCP与肝癌细胞血管侵袭^[17]、肝脏肿瘤组织的大小密切相关,而与血清AFP水平无明显关联^[18]。Suzuki等^[19]研究发现,当HCC细胞经历轻微的表型变化时,会产生DCP。但是,当肝癌细胞向间质转化时,他们合成蛋白的能力会减弱,DCP产生会减少。DCP可能是一个独一无二的反映HCC细胞表型变化的肿瘤标志物。Yue等^[20]研究发现DCP结合细胞表面受体Met,导致Met磷酸化,进而激活EGFR。而且DCP可以增加基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)和MMP-9的表达与分泌,通过激活细胞外调节蛋白激酶1/2-丝裂原活化蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases-mitogen-activated protein kinase, ERK1/2-MAPK)信号通路来刺激肝癌的生长并促进其转移。DCP在预测HCC肿瘤行为起到关键作用。但是目前的基础机制并不是很明确,所以需要更多的研究。

DCP不仅可作为HCC的诊断指标,而且也可应用于监测治疗效果、预后的判断和随访及复发的治疗预后^[21],HCC患者AFP和DCP都增高的情况下其生存率是最低的,无1人存活时间超过3年,相反AFP和DCP均低的患者却有较好的预后^[22]。在有乙型肝炎背景的HCC患者中,血清DCP水平较高的患者,肿瘤更具有侵袭的特征,并且这些患者的平均生存时间缩短^[23]。对于小肝癌,术前DCP水平高会有肿瘤复发的可能性^[24]。Yamashita等^[25]研究发现在HCC>2 cm时,DCP水平高时(>100 mAU/mL)更容易发生微侵袭。因此,在这种患者,肝切除手术被推荐。而且DCP可以作为评估肿瘤对索拉非尼反应性的预测分子^[26],或者作为肝移植受体的参考标准^[12]。

近年有关肝癌标志物的研究较多,一些新

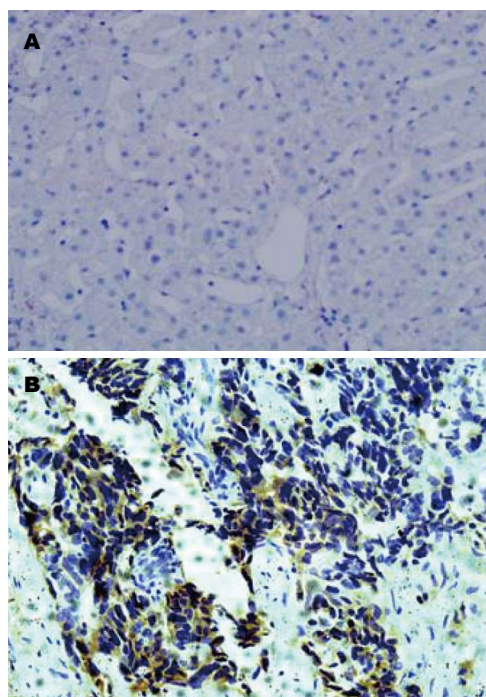


图 7 免疫组织化学检测DCP在肝癌组织中的表达($\times 200$)。A: 正常肝组织; B: 肝癌组织。

技术如基因芯片和蛋白质组学的应用已经筛选出了很多基因和蛋白,众多新的标志物被发现。但很多研究尚缺乏多中心和大样本资料的验证,使研究结果的说服力有限。而且由于实验的方法、筛选的临界值和研究的人群不同,导致研究结果很难比较。目前临床上标志物众多,但在血清检查中尚没有单一的高特异性和敏感性的肿瘤标志物可以检测出所有的肝癌患者。每一种肿瘤标志物在诊断上都有其独特的优势,但是也有他的局限性。因此,对肿瘤标志物的联合检测至关重要,可以增加诊断肝癌的敏感性^[27]。如AFP、AFP-L3和DCP的应用^[28,29],AFP特异性不足,但是被广泛应用于治疗评估与预后预测。DCP是一个独一无二的标志物,与AFP值无关,可以预测微血管侵袭,AFP-L3有很高特异性而且是很强的预后预测分子,3个标志物在HCC临床各个方面必不可少。而且AFP、AFP-L3、DCP的联合检测在小肝癌的诊断方面比早期传统的组后更优胜、更准确^[30]。联合检测可以更好的早期诊断肝癌,提高诊断的效率,这也是近年来肿瘤早期血清学诊断发展的方向。联合检测项目越多,其诊断特异性越强,但是其敏感性并非越高,同时也会给患者在经济上带来不必要的负担。因此科学合理运用已知的肿瘤标志物来联合诊断HCC至关重要。

同行评价

本文作者通过基因克隆技术成功制备了DCP融合蛋白,进而将其免疫小鼠,制备了抗DCP mAb的杂交瘤细胞株,成功制备了抗人DCP单克隆抗体,经免疫印迹和免疫组织化学初步验证其具有良好的特异结合活性。本研究为提高肝细胞癌的早期确诊率提供了理论基础和实验依据。

目前DCP蛋白的生物学功能研究已经全面开展,亟需高质量的抗体。但是关于DCP的单克隆抗体制备报道较少,免疫的抗原难以制备可能是其中的主要原因。本研究以大肠杆菌*E. coli* BL21(DE3)原核表达系统,其具有营养要求低、操作方便、周期短、蛋白表达量高、试验成本低等优点,是目前一种广泛应用的基因表达系统。本实验原核表达DCP产量较高,有一定的优势。本研究选择带有6×His标签的pCold II为原核表达载体,此载体可以在较低的温度及诱导剂浓度下诱导目的蛋白表达,有利于蛋白结构的稳定,并提高蛋白产量。His标签与其他标签相比有很多明显优势,是目前用于纯化的融合标签中使用最为广泛的一种。His因其分子量较小,免疫原性少,对目的蛋白的大小、构象和特性影响不大,纯化之后的重组蛋白不必除去标签;再者His不带电(pH 8.0),不会对蛋白质的表达、分泌、折叠、构象形成等产生显著影响,以前常用的GST标签,因其分子量较大,在纯化后需要切除标签后才能进行下一步的检测分析;而且与之前有研究用DEAE-Sephacel分离DCP蛋白相比^[31],更容易得到和天然蛋白相似的产物,更好的作为抗原免疫制备抗体。因为重组蛋白免疫原性较好,而且可大量诱导纯化,这也避免了基因免疫后抗体效价低,很难制备单克隆抗体的缺点。本研究研制的抗体识别DCP的条带仅有一条,且免疫组织化学结果阳性,表明抗体特异性较好,原核表达诱导小鼠产生的主要是针对非糖基化和线性化表位的抗体,所以本抗体可能与DCP非糖基化位点上出现特异性的结合,有待进一步研究确认。

总之,本研究的重要意义:(1)以pCold II原核表达载体诱导表达纯化6×His标签的DCP重组蛋白,为今后规模化生产提供基础;(2)最终获得1株持续稳定分泌抗DCP mAb杂交瘤细胞株,成功制备了效价高、特异性好的鼠抗人DCP单克隆抗体,并检测了肝细胞肝癌中的DCP的表达,为以后的DCP在肝癌发生发展中的功能研究及后期肝癌早期诊断试剂条的开发奠定了良好的检测工具。

4 参考文献

- 1 Poon D, Anderson BO, Chen LT, Tanaka K, Lau WY, Van Cutsem E, Singh H, Chow WC, Ooi LL, Chow P, Khin MW, Koo WH. Management of hepatocellular carcinoma in Asia: consensus statement from the Asian Oncology Summit 2009. *Lancet*

- Oncol* 2009; 10: 1111-1118 [PMID: 19880065 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70241-4]
- 2 Wu SD, Ma YS, Fang Y, Liu LL, Fu D, Shen XZ. Role of the microenvironment in hepatocellular carcinoma development and progression. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 218-225 [PMID: 21763074 DOI: 10.1016/j.ctrv.2011.06.010]
- 3 Altekruze SF, McGlynn KA, Dickie LA, Kleiner DE. Hepatocellular carcinoma confirmation, treatment, and survival in surveillance, epidemiology, and end results registries, 1992-2008. *Hepatology* 2012; 55: 476-482 [PMID: 21953588 DOI: 10.1002/hep.24710]
- 4 Trinchet JC, Chaffaut C, Bourcier V, Degos F, Henrion J, Fontaine H, Roulot D, Mallat A, Hillaire S, Cales P, Ollivier I, Vinel JP, Mathurin P, Bronowicki JP, Vilgrain V, N'Kontchou G, Beaugrand M, Chevret S. Ultrasonographic surveillance of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a randomized trial comparing 3- and 6-month periodicities. *Hepatology* 2011; 54: 1987-1997 [PMID: 22144108 DOI: 10.1002/hep.24545]
- 5 Gupta S, Bent S, Kohlwe J. Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. A systematic review and critical analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139: 46-50 [PMID: 12834318]
- 6 Spangenberg HC, Thimme R, Blum HE. Serum markers of hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2006; 26: 385-390 [PMID: 17051452 DOI: 10.1055/s-2006-951606]
- 7 Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, Coleman MS, Furie B. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984; 310: 1427-1431 [PMID: 6201741 DOI: 10.1056/NEJM198405313102204]
- 8 Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-497 [PMID: 1172191 DOI: 10.1038/256495a0]
- 9 Kearney JF, Radbruch A, Liesegang B, Rajewsky K. A new mouse myeloma cell line that has lost immunoglobulin expression but permits the construction of antibody-secreting hybrid cell lines. *J Immunol* 1979; 123: 1548-1550 [PMID: 113458]
- 10 Furie B, Furie BC. Molecular basis of vitamin K-dependent gamma-carboxylation. *Blood* 1990; 75: 1753-1762 [PMID: 2184900]
- 11 Bertino G, Ardiri AM, Boemi PM, Ierna D, Interlandi D, Caruso L, Minona E, Trovato MA, Vicari S, Li Destri G, Puleo S. A study about mechanisms of des-gamma-carboxy prothrombin's production in hepatocellular carcinoma. *Panminerva Med* 2008; 50: 221-226 [PMID: 18927526]
- 12 Inagaki Y, Tang W, Makuuchi M, Hasegawa K, Sugawara Y, Kokudo N. Clinical and molecular insights into the hepatocellular carcinoma tumour marker des-γ-carboxyprothrombin. *Liver Int* 2011; 31: 22-35 [PMID: 20874725 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02348.x]
- 13 Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen PJ, Lin SM, Yoshida H, Kudo M, Lee JM, Choi BI, Poon RT, Shiina S, Cheng AL, Jia JD, Obi S, Han KH, Jafri W, Chow P, Lim SG, Chawla YK, Budihusodo U, Gani RA, Lesmana CR, Putranto TA, Liaw YF, Sarin SK. Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocel-

- lular carcinoma. *Hepatol Int* 2010; 4: 439-474 [PMID: 20827404 DOI: 10.1007/s12072-010-9165-7]
- 14 Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, Wright EC, Hoefs JC, Di Bisceglie AM, Morgan TR, Kim HY, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL. Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2010; 138: 493-502 [PMID: 19852963 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.031]
 - 15 Ertle JM, Heider D, Wichert M, Keller B, Kueper R, Hilgard P, Gerken G, Schlaak JF. A combination of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin is superior in detection of hepatocellular carcinoma. *Digestion* 2013; 87: 121-131 [PMID: 23406785 DOI: 10.1159/000346080]
 - 16 Gao P, Li M, Tian QB, Liu DW. Diagnostic performance of des- γ -carboxy prothrombin (DCP) for hepatocellular carcinoma: a bivariate meta-analysis. *Neoplasma* 2012; 59: 150-159 [PMID: 22248272 DOI: 10.4149/neo_2012_020]
 - 17 Matsubara M, Shiraha H, Kataoka J, Iwamuro M, Horiguchi S, Nishina S, Takaoka N, Uemura M, Takaki A, Nakamura S, Kobayashi Y, Nouse K, Yamamoto K. Des- γ -carboxyl prothrombin is associated with tumor angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1602-1608 [PMID: 22554292 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07173.x]
 - 18 Takayasu K, Arai S, Sakamoto M, Matsuyama Y, Kudo M, Ichida T, Nakashima O, Matsui O, Izumi N, Ku Y, Kokudo N, Makuuchi M. Clinical implication of hypovascular hepatocellular carcinoma studied in 4,474 patients with solitary tumour equal or less than 3 cm. *Liver Int* 2013; 33: 762-770 [PMID: 23445409 DOI: 10.1111/liv.12130]
 - 19 Suzuki H, Murata K, Gotoh T, Kusano M, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Imamura M, Kudo M, Mizokami M, Sakamoto A. Phenotype-dependent production of des- γ -carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1219-1229 [PMID: 21744129 DOI: 10.1007/s00535-011-0432-8]
 - 20 Yue P, Gao ZH, Xue X, Cui SX, Zhao CR, Yuan Y, Yin Z, Inagaki Y, Kokudo N, Tang W, Qu XJ. Des- γ -carboxyl prothrombin induces matrix metalloproteinase activity in hepatocellular carcinoma cells by involving the ERK1/2 MAPK signalling pathway. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1115-1124 [PMID: 21349701 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.01.017]
 - 21 Bertino G, Arditi AM, Calvagno GS, Bertino N, Boemi PM. Prognostic and diagnostic value of des- γ -carboxy prothrombin in liver cancer. *Drug News Perspect* 2010; 23: 498-508 [PMID: 21031166 DOI: 10.1358/dnp.2010.23.8.1444236]
 - 22 Chon YE, Choi GH, Lee MH, Kim SU, Kim do Y, Ahn SH, Kim KS, Choi JS, Han KH, Chon CY, Park JY. Combined measurement of preoperative α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin predicts recurrence after curative resection in patients with hepatitis-B-related hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2012; 131: 2332-2341 [PMID: 22362471 DOI: 10.1002/ijc.27507]
 - 23 Kim HS, Park JW, Jang JS, Kim HJ, Shin WG, Kim KH, Lee JH, Kim HY, Jang MK. Prognostic values of alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence or antagonist-II in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a prospective study. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 482-488 [PMID: 19197197 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318182015a]
 - 24 Bae HM, Lee JH, Yoon JH, Kim YJ, Heo DS, Lee HS. Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II production is a strong predictive marker for extrahepatic metastases in early hepatocellular carcinoma: a prospective evaluation. *BMC Cancer* 2011; 11: 435 [PMID: 21985636 DOI: 10.1186/1471-2407-11-435]
 - 25 Yamashita Y, Tsujita E, Takeishi K, Fujiwara M, Kira S, Mori M, Aishima S, Taketomi A, Shirabe K, Ishida T, Maehara Y. Predictors for microinvasion of small hepatocellular carcinoma ≤ 2 cm. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2027-2034 [PMID: 22203184 DOI: 10.1245/s10434-011-2195-0]
 - 26 Ueshima K, Kudo M, Takita M, Nagai T, Tatsumi C, Ueda T, Kitai S, Ishikawa E, Yada N, Inoue T, Hagiwara S, Minami Y, Chung H, Sakurai T. Des- γ -carboxyprothrombin may be a promising biomarker to determine the therapeutic efficacy of sorafenib for hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2011; 29: 321-325 [PMID: 21829024 DOI: 10.1159/000327570]
 - 27 Bertino G, Arditi A, Malaguarnera M, Malaguarnera G, Bertino N, Calvagno GS. Hepatocellular carcinoma serum markers. *Semin Oncol* 2012; 39: 410-433 [PMID: 22846859 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.05.001]
 - 28 Marrero JA, Feng Z, Wang Y, Nguyen MH, Befeler AS, Roberts LR, Reddy KR, Harnois D, Llovet JM, Normolle D, Dalhgren J, Chia D, Lok AS, Wagner PD, Srivastava S, Schwartz M. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137: 110-118 [PMID: 19362088 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.005]
 - 29 Sterling RK, Jeffers L, Gordon F, Venook AP, Reddy KR, Satomura S, Kanke F, Schwartz ME, Sherman M. Utility of Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin, alone or in combination, as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 104-113 [PMID: 18849011 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.08.041]
 - 30 Clinical Practice Guidelines for Hepatocellular Carcinoma - The Japan Society of Hepatology 2009 update. *Hepatol Res* 2010; 40 Suppl 1: 2-144 [PMID: 20586808 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2010.00650.x]
 - 31 Belle M, Brebant R, Guinet R, Leclercq M. Production of a new monoclonal antibody specific to human des-gamma-carboxyprothrombin in the presence of calcium ions. Application to the development of a sensitive ELISA-test. *J Immunoassay* 1995; 16: 213-229 [PMID: 7629279 DOI: 10.1080/15321819508013559]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



辛伐他汀保护小鼠急性肝衰竭肝损伤

雷延昌, 罗盼, 李雯

■背景资料

内毒素血症和微循环障碍所继发的肝损伤在肝衰竭发病中十分重要。辛伐他汀改善败血症血管炎症反应和微循环障碍, 对肝移植后缺血再灌注损伤具有保护作用。然而, 辛伐他汀对肝衰竭的保护作用尚不清楚。

雷延昌, 罗盼, 李雯, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006

雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎肝衰竭的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160065

作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由罗盼与李雯实施; 论文写作由雷延昌完成。

通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院。yclleihust@sina.com

电话: 0791-88499615

收稿日期: 2013-11-17 修回日期: 2013-11-28

接受日期: 2013-11-30 在线出版日期: 2013-12-18

Administration of simvastatin protects against acute live failure in mice

Yang-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li

Yang-Chang Lei, Pan Luo, Wen Li, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160065

Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yclleihust@sina.com

Received: 2013-11-17 Revised: 2013-11-28

Accepted: 2013-11-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To explore the effects of simvastatin on acute live failure in mice and the underlying mechanism.

METHODS: D-galactosamine (D-GaIN) and lipopolysaccharide (LPS) were used to induce acute liver failure in BALB/c mice. Male mice (6-8 wk) were randomly assigned to three groups ($n = 18$), a normal group, an acute liver failure group and a simvastatin treatment group. Kaplan-meier method was used for survival analysis. Serum ALT levels at different time point (6, 12, 24, 48 h) and hepatic superoxide level at 24 h were measured by biochemical methods. Hepatic morphological changes at 24 h were assessed by HE staining and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation was detected by immunohistochemistry. Serum levels of HMGB1, IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-10 were detected by

ELISA. Expression of eNOS, P-eNOS and LC3 II in liver tissues was analyzed by Western blot.

RESULTS: The survival rate at one week was significantly higher in the simvastatin treatment group than in the acute liver failure group (83.3% vs 33.3%, $P < 0.01$). Simvastatin treatment significantly decreased ALT levels at 6, 12, 24, and 48 h compared with the acute liver failure group (all $P < 0.01$). Serum levels of HMGB1 at 6 and 12 h and IL-1 β at 12 h were also decreased significantly in the simvastatin group (all $P < 0.01$), and the inflammation or necrosis and hepatocyte HMGB1 cytoplasmic translocation in liver tissues were decreased in the simvastatin group. In simvastatin-treated mice, eNOS, P-eNOS and LC3 II expression in liver tissue was increased compared to the acute liver failure group. However, hepatic superoxide level at 24 h was decreased in the simvastatin group.

CONCLUSION: Simvastatin protects against acute live failure possibly by improving endothelial dysfunction, oxide stress and hepatocyte autophagy in mice.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Simvastatin; Endothelial dysfunction; Autophagy; Acute liver failure

Lei YC, Luo P, Li W. Administration of simvastatin protects against acute live failure in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3940-3946 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3940.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3940>

摘要

目的: 了解辛伐他汀对急性肝衰竭肝损伤的保护作用及其机制。

方法: D-氨基半乳糖(D galactosamine, D-GaIN)和细菌脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)腹腔注射建立小鼠急性肝衰竭模型。♂ 6-8周龄Balb/c随机分为正常组、肝衰竭对照组和辛伐他汀组, 每组18只。Kaplan-Meier法

■同行评议者

朴云峰, 教授, 吉林大学第一临床医院消化科; 宣世英, 教授, 青岛市立医院肝病内科

分析小鼠生存率, 生化检测6、12、24和48 h血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和24 h肝脏超氧化物水平. HE染色分析24 h肝脏形态学变化, 免疫组织化学分析12 h肝脏高迁移率族蛋白1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)表达. ELISA检测血清HMGB1、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10水平, 免疫印迹分析内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、磷酸化内皮型一氧化氮合酶(P-eNOS)和LC3 II表达.

结果: 辛伐他汀组1 wk生存率为83.3%显著高于肝衰竭对照组的33.3%($P<0.01$); 6、12、24和48 h血清ALT水平显著低于急性肝衰竭组($P<0.01$). 辛伐他汀组6和12 h的HMGB1水平以及24 h的IL-1 β 水平显著低于肝衰竭对照组($P<0.01$), 肝脏炎症坏死和HMGB1胞浆移位较对照明显减轻. 辛伐他汀增加急性肝衰竭动物肝脏eNOS、P-eNOS和LC3 II表达水平, 降低肝组织超氧化物水平.

结论: 辛伐他汀对急性肝衰竭具有保护作用, 其机制与改善内皮细胞功能障碍、氧化应激和促进肝细胞自噬有关.

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有.

关键词: 辛伐他汀; 内皮细胞功能障碍; 自噬; 急性肝衰竭

核心提示: 辛伐他汀改善肝脏内皮细胞功能障碍、氧化应激和促进肝细胞自噬保护急性肝衰竭肝损伤.

雷延昌, 罗盼, 李雯. 辛伐他汀保护小鼠急性肝衰竭肝损伤. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3940–3946 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3940.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3940>

0 引言

革兰氏阴性菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)抑制肝窦内皮细胞NO产生, 增加肝脏血管阻力和降低乙酰胆碱的舒血管效应导致内皮细胞功能障碍^[1-3]. 最近研究发现, 辛伐他汀抑制LPS诱导的肝脏内皮细胞功能障碍, 保护内毒素血症引起的肝损伤^[4]. 慢性肝病和肝硬化内毒素血症导致肝窦内皮细胞功能障碍, 尤其在肝硬化肠道细菌移位时加重^[5-9], 辛伐他汀改善肝硬化门脉

高压患者肝窦内皮细胞功能障碍^[10-12]. 此外, 他汀类药物改善败血症血管炎症反应和微循环障碍^[13,14]. 最近研究发现, 辛伐他汀保护肝移植后缺血再灌注损伤, 在供体肝脏冷藏液中加入辛伐他汀可以维持肝脏血管内皮细胞KLF2表达发挥血管保护作用, 抑制肝损伤、炎症反应和氧化应激, 从而改善内皮细胞功能障碍^[15].

目前认为, 内毒素血症和微循环障碍导致的继发性肝损伤在肝衰竭的发生发展过程中发挥重要作用^[16]. 病毒、药物、酒精等直接或免疫损伤致肝细胞坏死和局部炎症反应, 炎症反应导致微循环障碍造成缺血缺氧进一步加重肝细胞死亡, 促进内毒素血症的发生, 最终加速肝细胞死亡和肝衰竭的发生和进展. 基于辛伐他汀保护内毒素血症和缺血再灌注引起的肝损伤, 改善微循环障碍和肝硬化肝窦内皮细胞功能障碍, 推测辛伐他汀具有改善微循环障碍对急性肝衰竭具有保护作用. 为验证上述假说进行本研究.

1 材料和方法

1.1 材料 δ 6-8周龄Balb/c小鼠, 体质量20 g \pm 0.5 g, 由南昌大学医学院动物实验中心提供(动物质量合格证编号2013091206), 动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南. 主要试剂: 细菌脂多糖(Sigma公司, 美国), D-氨基半乳糖(Sigma公司, 美国); 辛伐他汀标准品购自中国药品生物制品检定所. 高迁移率族蛋白1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)和白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10试剂盒(NEB公司, 美国), 超氧化物检测试剂盒(碧云天, 中国). 兔抗鼠HMGB1(ABGENT公司, 美国); 兔抗鼠LC3 II(Cell signaling公司, 美国); 兔抗鼠eNOS 和P-eNOS(Abcam公司, 英国).

1.2 方法

1.2.1 动物模型及分组: Balb/c小鼠 δ 实验前12 h禁食, 不禁水. 动物随机分为3组: 正常组、急性肝衰竭组和辛伐他汀组, 每组18只. 急性肝衰竭组给予D-GaIN(600 mg/kg)和LPS(10 μ g/kg)腹腔注射, 辛伐他汀治疗组在腹腔注射D-GaIN/LPS前3 d每日给予辛伐他汀(25 mg/kg)灌胃, 正常组和急性肝衰竭对照组在相应时间点等量PBS灌胃.

1.2.2 标本收集: 腹腔注射D-GaIN/LPS后6、12、24、48 h对存活动物眼眶采血分离血清置于-80 $^{\circ}$ C保存. 分别于12和24 h处死部分动物, 肝

■ 研发前沿

改善内毒素血症和微循环障碍减轻肝衰竭肝细胞炎症坏死, 糖皮质激素和目前的保肝抗炎药物可减轻炎症反应, 但糖皮质激素的不良反应和保护肝药物治疗肝衰竭的效果有限, 探索改善内毒素血症和微循环障碍的方法十分必要.

■ 相关报道

辛伐他汀保护内毒素血症和缺血再灌注引起的肝损伤,改善微循环障碍和肝硬化肝窦内皮细胞功能障碍,其机制是通过抑制炎症反应、氧化应激、改善微循环障碍和促进肝细胞自噬等。

表 1 辛伐他汀对急性衰竭小鼠血清谷丙转氨酶(U/L)水平的影响 (mean \pm SD, $n = 18$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h
正常组	60.00 \pm 14.25	60.67 \pm 9.14	57.17 \pm 9.47	58.07 \pm 10.57
辛伐他汀组	761.31 \pm 194.16 ^d	2355.86 \pm 1118.28 ^d	890.39 \pm 409.42 ^d	474.06 \pm 323.56 ^d
肝衰竭组	736.62 \pm 421.54 ^{bd}	7612.86 \pm 1979.75 ^{bd}	3741.43 \pm 1937.35 ^{bd}	204.95 \pm 45.29 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 辛伐他汀治疗组; ^d $P < 0.01$ vs 正常组。

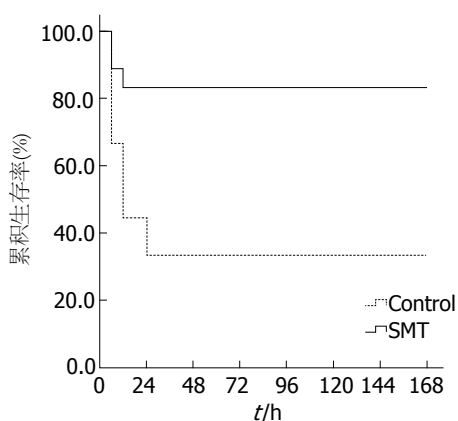


图 1 辛伐他汀治疗组和D-GalN/LPS急性肝衰竭对照组小鼠1 wk生存曲线。Balb/c小鼠腹腔注射D-GalN/LPS(600 mg/kg, 10 μ g/kg)诱导急性肝衰竭,腹腔注射前3 d, 1次/d给予辛伐他汀(25 mg/kg)灌胃。Kaplan-Meier生存率分析, $P < 0.01$ (Log rank test, $F = 8.661$, $P = 0.003$)。SMT: 辛伐他汀; Control: 急性肝衰竭对照组。

组织用40 g/L中性甲醛固定,进行免疫组织化学检测HMGB1表达和肝脏病理分析。

1.2.3 血清生化和细胞因子检测:全自动生化分析仪检测ALT,血清HMGB1和IL-1 β 、TNF- α 、IL-6和IL-10和超氧化物检测按照生产厂家说明书进行,根据标准品获得标准曲线计算结果。

1.2.4 免疫印迹及其分析:免疫印迹及其分析:取0.5 g肝组织研磨后加入1 mL含蛋白酶抑制剂混合物的双蒸水混匀-80 $^{\circ}$ C保存,取10 μ L样品加入90 μ L RIPA高效裂解液(碧云天,中国)充分裂解,6000 g离心30 s,加入50 μ L上样缓冲液,聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上,10%的BSA在4 $^{\circ}$ C封闭过夜,一抗37 $^{\circ}$ C孵育2 h, 1:10000辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体37 $^{\circ}$ C孵育0.5 h,化学发光法检测结果,Quantity one分析软件进行灰度分析。

统计学处理 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析,数据资料以mean \pm SD表示,生存率比较采用Log-rank检验,重复测量设计资料分析采用方差分析,两组间比较应用独立样本 t 检验,两

个样本率的比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 辛伐他汀治疗提高D-GalN/LPS急性肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT水平 Kaplan-Meier生存分析显示, D-GalN/LPS腹腔注射小鼠1 wk生存率为33.3%,显著低于MSC-CM治疗组的83.3%($P < 0.01$, 图1)。生化检测小鼠血清ALT水平可了解肝细胞损伤的程度,急性肝衰竭小鼠血清ALT在6 h开始升高,12 h达峰值,24 h维持在较高水平,48 h逐渐恢复。辛伐他汀治疗组6、12和24 h血清ALT水平显著低于急性肝衰竭组($P < 0.01$, 表1)。

2.2 辛伐他汀降低急性肝衰竭小鼠IL-1 β 和HMGB1水平,对TNF- α 、IL-6和抗炎因子IL-10水平没有影响 在本研究中, D-GalN/LPS诱导急性肝衰竭小鼠血清12 h的ALT水平达峰值。前期研究显示,小鼠血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和抗炎因子IL-10的峰值水平也出现在12 h。为了解辛伐他汀对急性肝衰竭炎症因子和抗炎因子水平的影响,ELISA检测结果显示,辛伐他汀治疗组TNF- α 、IL-6和抗炎因子IL-10与对照组无显著差异,而IL-1 β 显著低于对照组($P < 0.01$, 图2A)。近年来发现HMGB1在急性肝衰竭炎症反应中发挥重要作用,研究者前期发现D-GalN/LPS诱导急性肝衰竭小鼠血清HMGB1在6 h已开始升高,12 h达高峰,24 h开始下降,48 h接近正常水平。为了解MSC-CM治疗对肝衰竭HMGB1的影响,比较6、12和24 h血清HMGB1水平,结果显示辛伐他汀治疗组在6和12 h的HMGB1水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$, 图2B)。

2.3 辛伐他汀治疗减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死和HMGB1肝细胞移位 急性肝衰竭对照组肝细胞大片状坏死,坏死区大量炎症细胞浸润(图3C),肝脏 HMGB1不仅在胞核表达,大量肝

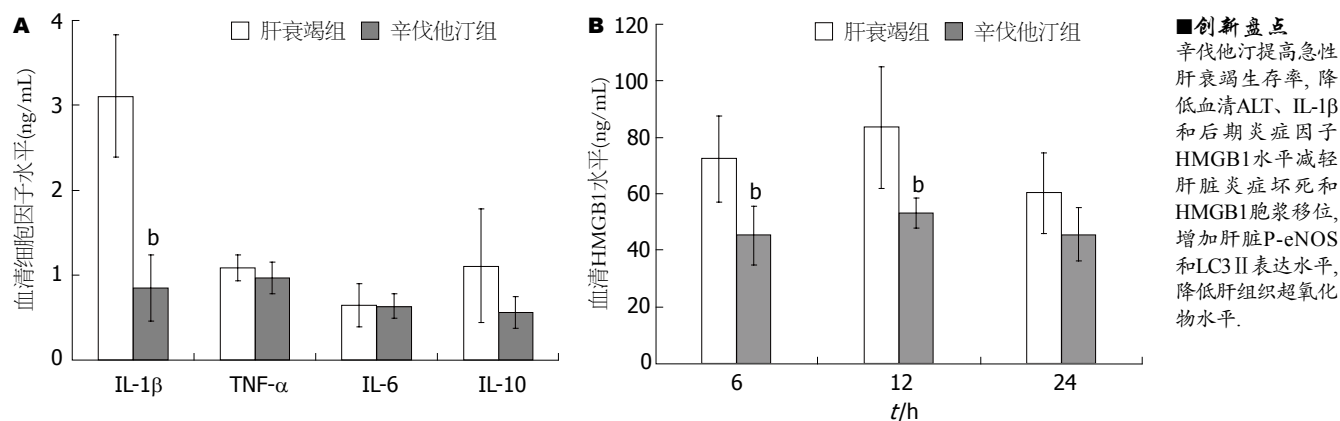


图2 辛伐他汀对肝衰竭小鼠血清炎症因子和抗炎因子水平的影响. 辛伐他汀治疗组($n = 18$)和肝衰竭组($n = 18$)血清细胞因子水平. A: 血清细胞因子水平, 辛伐他汀治疗组12 h的TNF- α 、IL-6和抗炎因子IL-10水平与肝衰竭组无差异, 两组IL-1 β 水平差异有显著性, $^bP < 0.01$ vs 肝衰竭组; B: 血清HMGB1水平, 辛伐他汀治疗组12和24 h血清HMGB1水平显著低于肝衰竭组, $^bP < 0.01$ vs 肝衰竭组, 而血清6 h的HMGB1水平无差异. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子.

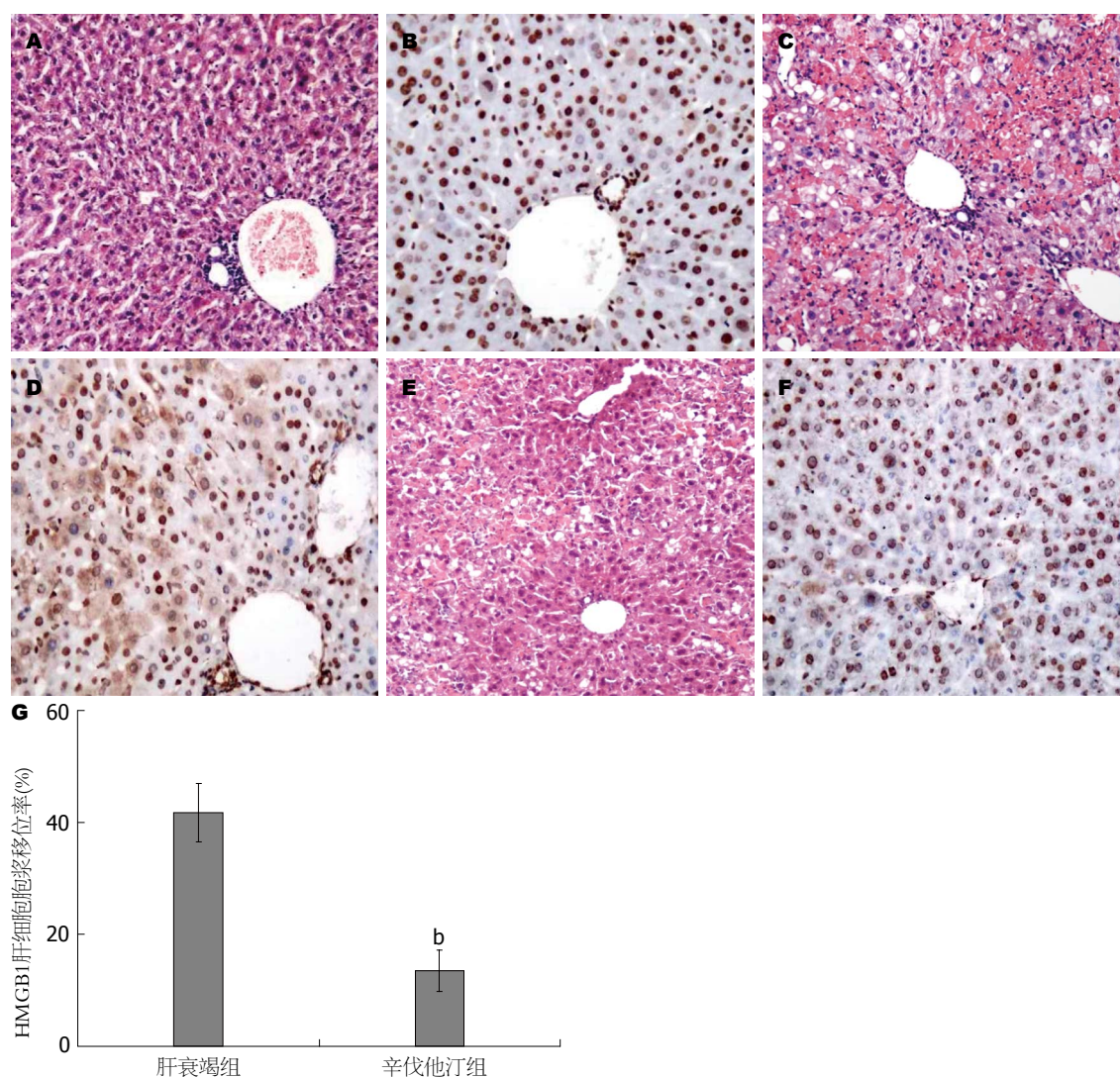


图3 辛伐他汀减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死($\times 200$). A: 正常小鼠肝组织HE染色; B: 正常小鼠肝脏细胞HMGB1表达在胞核; C: 急性肝衰竭组小鼠肝细胞片状坏死, 坏死区大量炎症细胞浸润; D: 急性肝衰竭组小鼠大量肝细胞胞浆表达HMGB1, 发生HMGB1胞浆移位; E: 辛伐他汀治疗组仅出现局灶性肝细胞坏死; F: 辛伐他汀治疗组仅发生少量HMGB1胞浆移位; G: 肝细胞HMGB1胞浆移位率. 辛伐他汀治疗组肝细胞HMGB1胞浆移位率显著低于肝衰竭组, $^bP < 0.01$ vs 肝衰竭组.

■应用要点

本研究显示辛伐他汀保护急性肝衰竭肝损伤,近年来发现,辛伐他汀与核苷类抗病毒药物联合增加抗病毒效应,辛伐他汀治疗慢性乙型肝炎肝衰竭值得进一步研究。

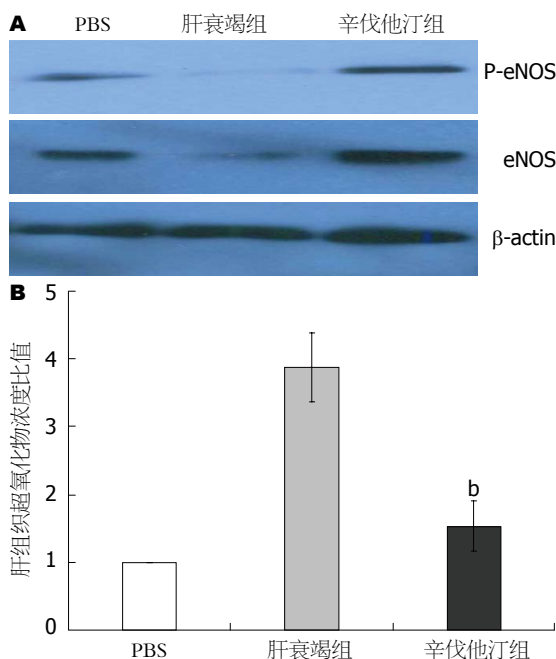


图4 辛伐他汀对内皮细胞氧化亚氮合成酶和肝脏过氧化物水平的影响。A: 免疫印迹检测不同处理组肝脏eNOS和P-eNOS表达; B: 各处理组肝脏过氧化物水平。^b $P < 0.01$, $t = 9.1$ vs 肝衰竭组。eNOS: 内皮型一氧化氮合酶; P-eNOS: 磷酸化内皮型一氧化氮合酶。

细胞胞浆有明显表达(图3D)。辛伐他汀治疗组肝小叶结构基本完整,局灶肝细胞嗜酸性变,无炎症细胞浸, HMGB1胞浆表达肝细胞较少(图3E, 3F)。图像分析对照组HMGB1肝细胞移位率显著高于辛伐他汀治疗组($P < 0.01$, 图3G)。

2.4 辛伐他汀增加内皮细胞氧化亚氮合成酶和降低肝脏过氧化物水平 为了解辛伐他汀对急性肝衰竭肝脏微循环障碍和氧化应激的影响,免疫印迹检测肝脏eNOS和P-eNOS水平显示,急性肝衰竭小鼠肝脏eNOS和P-eNOS较PBS对照组明显降低,辛伐他汀治疗增加其表达水平(图4A)。测定各处理组肝组织过氧化物水平显示,辛伐他汀治疗组肝组织超氧化物浓度比值显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$, 图4B)。

2.5 辛伐他汀促进急性肝衰竭小鼠肝细胞自噬 近年来的研究显示,诱导自噬保护多种诱因的急性肝细胞损伤。为了解辛伐他汀的肝脏保护作用与肝细胞自噬有关,免疫印迹检测不同治疗组肝脏LC3 II表达显示,辛伐他汀组肝脏LC3 II表达较急性肝衰竭组高(图5)。表明辛伐他汀促进急性肝衰竭肝细胞自噬。

3 讨论

D-GalN/LPS腹腔注射是目前比较成熟的小鼠急性肝衰竭模型,较好的模拟肝衰竭发病机制。⚔

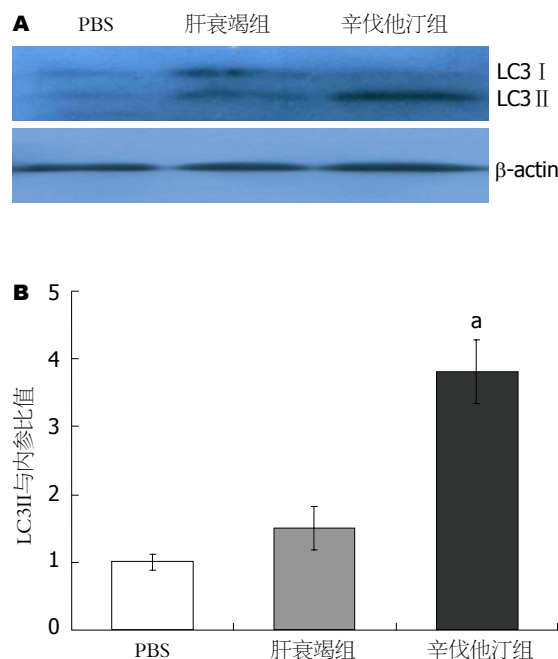


图5 辛伐他汀促进急性肝衰竭肝细胞自噬。A: 免疫印迹检测肝脏LC3 II表达; B: 以PBS组为1.0比较不同处理组肝脏LC3 II表达,辛伐他汀治疗组LC3 II表达较肝衰竭组增高,^a $P < 0.05$, $t = 3.11$ vs 肝衰竭组。

Balb/c小鼠腹腔注射D-GalN/LPS 1 wk生存率为33.3%,动物死亡发生在给药后12-24 h,与作者之前的研究一致^[17,18]。辛伐他汀治疗组小鼠1 wk生存率为83.3%显著高于肝衰竭对照组的33.3%。急性肝衰竭小鼠血清ALT水平在6 h开始升高,12 h达高峰,24 h开始下降并逐渐恢复正常,与国外的研究和作者近来的研究结果一致^[17,19,20]。辛伐他汀治疗组显著降低血清ALT水平和肝脏炎症减轻,显示其保护急性肝衰竭肝损伤保护作用。

内毒素血症和肝脏微循环障碍所继发的肝损伤在肝衰竭的发生发展过程中具有重要作用目前已得到共识^[16]。肝衰竭内毒素血症发生率可高达90%-100%,内毒素血症产生的LPS刺激巨噬细胞或枯否细胞释放大量炎症因子加重肝损伤。氯化钆部分清除肝脏枯否细胞,显著降低D-GalN/LPS诱导小鼠急性肝损伤,提高生存率^[21]。近年来发现,后期炎症因子HMGB1在急性肝衰竭发生和疾病的严重程度密切相关^[12],急性肝衰竭发生肝细胞HMGB1胞浆移位^[22]。HMGB1可通过LPS刺激巨噬细胞和血管内皮细胞等主动释放,亦可由坏死肝细胞被动释放^[23-26],HMGB1促进TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-8释放和外周单核细胞趋化因子释放,募集更多炎症细胞加剧炎症反应和组织损伤。本研究显示,与急性肝衰

竭对照组比较, 辛伐他汀组血清12 h的HMGB1和IL-1 β 水平显著降低, 而TNF- α 、IL-1 β 、IL-6以及抗炎因子IL-10的水平无差异。然而, 辛伐他汀治疗组肝脏炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位显著减轻。由于HMGB1既可通过巨噬细胞LPS刺激产生, 又可通过坏死肝细胞被动释放, 提示辛伐他汀对LPS刺激巨噬细胞或枯否细胞炎症因子释放的影响较小, 不是其保护肝衰竭肝细胞损伤的主要机制。

肝衰竭继发性肝损伤的另外一个重要因素是肝脏微循环障碍, 肝脏炎症反应导致微循环障碍, 造成了缺血缺氧性损伤, 缺血缺氧直接导致肝细胞死亡, 肝细胞大量死亡, 肝脏解毒能力降低、肠道屏障功能障碍、免疫抑制等, 促进内毒素血症的发生, 内毒素血症加速了肝细胞的死亡^[16]。

败血症和肝硬化内毒素血症导致肝窦内皮细胞功能障碍, LPS抑制肝窦内皮细胞NO产生, 增加肝脏血管阻力^[1-4]。近年来的研究发现, 辛伐他汀改善败血症和肝硬化门脉高压患者肝窦内皮细胞功能障碍, 减轻肝损伤^[4,10-12]。最近发现, 辛伐他汀保护肝移植缺血再灌注损伤, 其作用是通过改善内皮细胞功能障碍, 抑制炎症反应和氧化应激减少肝损伤^[15]。本研究发现辛伐他汀增加急性肝衰竭动物肝脏eNOS和P-eNOS, 降低肝组织超氧化物水平。肝脏eNOS和P-eNOS主要由肝脏血管内皮细胞产生, 因此, 辛伐他汀增加血管内皮细胞eNOS和P-eNOS表达, NO水平增加改善急性肝衰竭微循环障碍, 同时降低氧化应激反应, 保护微循环障碍继发性肝细胞损伤。

最近研究显示, 细胞自噬可以选择性清除损伤的线粒体, 保护线粒体损伤诱导的细胞死亡。促进肝细胞自噬可以保护对乙酰氨基酚、D-GalN/LPS以及酒精对小鼠的肝细胞毒性, 抑制肝细胞自噬增加TNF- α 和D-GalN诱导的肝细胞凋亡及损伤^[27-29]。虽然LPS可以促进肝细胞自噬, 但D-GalN抑制LPS诱导的肝细胞自噬^[29]。本研究发现辛伐他汀增加急性肝衰竭小鼠肝脏LC3B II表达水平, 促进肝细胞自噬, 是保护肝损伤的机制之一。

本研究显示辛伐他汀提高急性肝衰竭小鼠生存率, 降低血清ALT水平, 改善肝脏炎症坏死和HMGB1肝细胞胞浆移位, 增加急性肝衰竭动物肝脏eNOS、P-eNOS和LC3B II表达水平, 降低肝组织超氧化物水平, 但对LPS刺激巨噬细胞或枯否细胞炎症因子释放的影响较小。因此, 辛

伐他汀对急性肝衰竭具有保护作用与改善内皮细胞功能障碍、氧化应激和促进肝细胞自噬有关。该结果为辛伐他汀保护肝衰竭肝细胞损伤提供了新的理论基础, 具有重要的理论和应用价值。此外, 辛伐他汀与核苷类抗乙型肝炎病毒药物联合增加其病毒抑制作用^[30]。因我国肝衰竭大部分是慢性乙型肝炎引起效应, 应用辛伐他汀治疗慢性乙型肝炎肝衰竭值得进一步研究。

4 参考文献

- 1 Bauer M, Bauer I, Sonin NV, Kresge N, Baveja R, Yokoyama Y, Harding D, Zhang JX, Clemens MG. Functional significance of endothelin B receptors in mediating sinusoidal and extrasinusoidal effects of endothelins in the intact rat liver. *Hepatology* 2000; 31: 937-947 [PMID: 10733551]
- 2 Yokoyama Y, Baveja R, Kresge N, Sonin N, Nakaniishi K, Zhang JX, Gitzelmann CA, Clemens MG. Endothelin receptor remodeling induces the portal venous hyper-response to endothelin-1 following endotoxin pretreatment. *Shock* 2002; 17: 36-40 [PMID: 11795667]
- 3 Kamoun WS, Karaa A, Kresge N, Merkel SM, Korneszcuk K, Clemens MG. LPS inhibits endothelin-1-induced endothelial NOS activation in hepatic sinusoidal cells through a negative feedback involving caveolin-1. *Hepatology* 2006; 43: 182-190 [PMID: 16374854]
- 4 La Mura V, Pasarín M, Meireles CZ, Miquel R, Rodríguez-Vilarrupla A, Hide D, Gracia-Sancho J, García-Pagán JC, Bosch J, Abraldes JG. Effects of simvastatin administration on rodents with lipopolysaccharide-induced liver microvascular dysfunction. *Hepatology* 2013; 57: 1172-1181 [PMID: 23184571 DOI: 10.1002/hep.26127]
- 5 Shah V, Toruner M, Haddad F, Cadelina G, Papapetropoulos A, Choo K, Sessa WC, Groszmann RJ. Impaired endothelial nitric oxide synthase activity associated with enhanced caveolin binding in experimental cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 1999; 117: 1222-1228 [PMID: 10535886]
- 6 Bosch J, Abraldes JG, Fernández M, García-Pagán JC. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: new targets in the treatment of portal hypertension. *J Hepatol* 2010; 53: 558-567 [PMID: 20561700 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.021]
- 7 La Mura V, Reverter JC, Flores-Arroyo A, Raffa S, Reverter E, Seijo S, Abraldes JG, Bosch J, García-Pagán JC. Von Willebrand factor levels predict clinical outcome in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Gut* 2011; 60: 1133-1138 [PMID: 21427197 DOI: 10.1136/gut.2010.235689]
- 8 Iwakiri Y, Groszmann RJ. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. *J Hepatol* 2007; 46: 927-934 [PMID: 17391799]
- 9 Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, Abraldes JG, Navasa M, Pérez-Mateo M, Such J, Bosch J. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52: 2044-2052 [PMID: 20979050 DOI: 10.1002/hep.23918]
- 10 Zafra C, Abraldes JG, Turnes J, Berzigotti A,

■同行评价

本文为辛伐他汀保护肝衰竭肝细胞损伤提供了新的理论基础, 具有重要的理论和应用价值。

- Fernández M, Garca-Pagán JC, Rodés J, Bosch J. Simvastatin enhances hepatic nitric oxide production and decreases the hepatic vascular tone in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 749-755 [PMID: 14988829]
- 11 Abrales JG, Rodríguez-Vilarrupla A, Graupera M, Zafra C, García-Calderó H, García-Pagán JC, Bosch J. Simvastatin treatment improves liver sinusoidal endothelial dysfunction in CCl4 cirrhotic rats. *J Hepatol* 2007; 46: 1040-1046 [PMID: 17335931]
 - 12 Abrales JG, Albillos A, Bañares R, Turnes J, González R, García-Pagán JC, Bosch J. Simvastatin lowers portal pressure in patients with cirrhosis and portal hypertension: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 2009; 136: 1651-1658 [PMID: 19208350 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.01.043]
 - 13 Terblanche M, Almog Y, Rosenson RS, Smith TS, Hackam DG. Statins and sepsis: multiple modifications at multiple levels. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 358-368 [PMID: 17448939]
 - 14 Janda S, Young A, Fitzgerald JM, Etminan M, Swiston J. The effect of statins on mortality from severe infections and sepsis: a systematic review and meta-analysis. *J Crit Care* 2010; 25: 656.e7-656.e22 [PMID: 20413251 DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.02.013]
 - 15 Marrone G, Russo L, Rosado E, Hide D, García-Cardena G, García-Pagán JC, Bosch J, Gracia-Sancho J. The transcription factor KLF2 mediates hepatic endothelial protection and paracrine endothelial-stellate cell deactivation induced by statins. *J Hepatol* 2013; 58: 98-103 [PMID: 22989565 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.08.026]
 - 16 叶一农, 高志良. 乙型肝炎肝衰竭发生机制中的三重打击. *中华肝病杂志* 2009; 21: 638-640
 - 17 雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2009-2015
 - 18 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1396-1401
 - 19 van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, Berthiaume F, Nahmias Y, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration in vitro and in vivo. *Hepatology* 2008; 47: 1634-1643 [PMID: 18395843 DOI: 10.1002/hep.22236]
 - 20 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982]
 - 21 Zhang M, Xu S, Han Y, Cao X. Apoptotic cells attenuate fulminant hepatitis by priming Kupffer cells to produce interleukin-10 through membrane-bound TGF- β . *Hepatology* 2011; 53: 306-316 [PMID: 21140375 DOI: 10.1002/hep.24029]
 - 22 Zhou RR, Zhao SS, Zou MX, Zhang P, Zhang BX, Dai XH, Li N, Liu HB, Wang H, Fan XG. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 21 [PMID: 21406085 DOI: 10.1186/1471-230X-11-21]
 - 23 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240]
 - 24 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600]
 - 25 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890]
 - 26 Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, Ferrera D, Porto A, Bachi A, Rubartelli A, Agresti A, Bianchi ME. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J* 2003; 22: 5551-5560 [PMID: 14532127]
 - 27 Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X, Dong XC, Yin XM. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol* 2013; 58: 993-999 [PMID: 23339953 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.011]
 - 28 Ni HM, Bockus A, Boggess N, Jaeschke H, Ding WX. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology* 2012; 55: 222-232 [PMID: 21932416 DOI: 10.1002/hep.24690]
 - 29 Amir M, Zhao E, Fontana L, Rosenberg H, Tanaka K, Gao G, Czaja MJ. Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation. *Cell Death Differ* 2013; 20: 878-887 [PMID: 23519075 DOI: 10.1038/cdd.2013.21]
 - 30 Bader T, Korba B. Simvastatin potentiates the anti-hepatitis B virus activity of FDA-approved nucleoside analogue inhibitors in vitro. *Antiviral Res* 2010; 86: 241-245 [PMID: 20211652 DOI: 10.1016/j.antiviral.2010.02.325]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



大黄治疗重症急性胰腺炎肠动力衰竭的机制

薛育政, 吴燕敏, 盛颖玥, 陆宇峰, 吴铁龙, 刘宗良, 俞宪民, 李兆申

薛育政, 吴燕敏, 盛颖玥, 陆宇峰, 吴铁龙, 刘宗良, 俞宪民, 李兆申, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院消化内科 上海市 200433

薛育政, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病基础与临床研究。江苏省“333工程”科研基金资助项目, No. CAE01101-06 江苏省中医药局中医药科技基金资助项目, No. LZ11127

无锡市社会发展基金资助项目, No. CSZ00N1110

作者贡献分布: 薛育政与吴燕敏对此文所作贡献均等; 此课题由薛育政、吴燕敏、盛颖玥、刘宗良、俞宪民及李兆申设计; 研究过程由吴燕敏、盛颖玥、陆宇峰及吴铁龙操作完成; 研究所用试剂与分析工具由薛育政与吴燕敏提供; 数据分析由薛育政与吴燕敏完成; 本论文写作由薛育政与吴燕敏完成。

通讯作者: 薛育政, 副主任医师, 214041, 江苏省无锡市兴源北路585号, 无锡市第三人民医院消化内科。xueyz001@163.com 电话: 0510-81195152

收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-11-01

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Effect of Da-Huang on intestinal motility failure in rats with severe acute pancreatitis

Yu-Zheng Xue, Yan-Min Wu, Ying-Yue Sheng, Yu-Feng Lu, Tie-Long Wu, Zong-Liang Liu, Xian-Ming Yu, Zhao-Shen Li

Yu-Zheng Xue, Yan-Min Wu, Ying-Yue Sheng, Yu-Feng Lu, Tie-Long Wu, Zong-Liang Liu, Xian-Ming Yu, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214041, Jiangsu Province, China Zhao-Shen Li, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital of Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Supported by: the “333 Project” Research Project of Jiangsu Province, No. CAE01101-06; the Jiangsu Chinese Medicine Scientific Research Project, No. LZ11127; and the Social Development Project of Wuxi City, No. CNZ00N1110

Correspondence to: Yu-Zheng Xue, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Wuxi, 585 Xingyuan North Road, Wuxi 214041, Jiangsu Province, China. xueyz001@163.com

Received: 2013-09-02 Revised: 2013-11-01

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of Da-Huang on intestinal motility failure in rats with severe acute pancreatitis (SAP) and the potential mechanism involved.

METHODS: Fifty-four SD rats were randomly

divided into a sham operation (SO) group, a SAP group and a Da-Huang treatment group, with 18 rats in each group. Gastrointestinal motility disturbance in rats with SAP was induced by retrograde injection of sodium taurocholate (0.1 mL/100 g) into the biliary pancreatic duct. Before modeling, the rats in the treatment group received 10% Da-Huang solution (2 mL/100 g), and the rats in other two groups received 0.9% NaCl solution. The rats were sacrificed at 3, 6 and 12 hours (6 rats at each time), and blood samples were taken for detecting the levels of amylase, lipase and the contents of 5-hydroxytryptamine (5-HT) by enzyme-linked immunosorbent assay. The jejunum, terminal ileum and sigmoid colon tissues 10 cm apart from the trans-ligament were collected at 6 h for examining the expressions of 5-HT₁ receptor (5-HT₁R) and 5-HT₂ receptor (5-HT₂R).

RESULTS: The levels of serum amylase, lipase and 5-HT at three time points in the SAP group (amylase: 9807 IU/L \pm 698 IU/L, 15442 IU/L \pm 952 IU/L, 18231 IU/L \pm 869 IU/L; lipase: 94 IU/L \pm 23 IU/L, 257 IU/L \pm 99 IU/L, 306 IU/L \pm 107 IU/L; 5-HT: 1192 ng/mL \pm 142 ng/mL, 1437 ng/mL \pm 114 ng/mL, 1646 ng/mL \pm 163 ng/mL) and treatment group (amylase: 2238 IU/L \pm 298 IU/L, 2313 IU/L \pm 302 IU/L, 2289 IU/L \pm 323 IU/L; lipase: 62 IU/L \pm 16 IU/L, 71 IU/L \pm 17 IU/L, 69 IU/L \pm 15 IU/L; 5-HT: 794 ng/mL \pm 86 ng/mL, 814 ng/mL \pm 83 ng/mL, 798 ng/mL \pm 81 ng/mL) were significantly higher than those in the SO group (amylase: 1853 IU/L \pm 272 IU/L, 1959 IU/L \pm 269 IU/L, 1897 IU/L \pm 293 IU/L; lipase: 46 IU/L \pm 9 IU/L, 54 IU/L \pm 11, 52 IU/L \pm 14 IU/L; 5-HT: 699 ng/mL \pm 64 ng/mL, 721 ng/mL \pm 76 ng/mL, 705 ng/mL \pm 72 ng/mL)(all $P < 0.01$), but they were lower in the treatment group than in the SAP group at each time point (all $P < 0.01$). The expression of 5-HT₁R and 5-HT₂R proteins was significantly decreased in the jejunum, terminal ileum and sigmoid colon in the SAP group compared with the SO group (all $P < 0.05$). The areas of 5-HT₁R and 5-HT₂R positive cells in the jejunum, terminal ileum and sigmoid colon in the SAP group (5-HT₁R posi-

■背景资料

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 具有病情重、并发症多、病死率高等特点, 肠动力衰竭是其最常见的并发症之一, 临床研究发现, 有效恢复SAP患者肠动力, 可显著降低并发症的发生率及死亡率, 提高抢救成功率及治愈率。

■同行评议者

刘改芳, 主任医师, 河北医科大学第三医院消化内科

■ 研发前沿

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)广泛分布于人体胃肠道, 是体内最重要的胃肠动力调节剂之一, 故5-HT及其受体在SAP肠动力衰竭中的变化值得关注。

tive cells: $4.58 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.56 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $4.64 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.63 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $4.79 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.56 \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 5-HT₂R positive cells: $4.89 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.61 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $4.76 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.51 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $5.03 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.73 \times 10^4 \mu\text{m}^2$) were significantly decreased compared with the SO group (5-HT₁R positive cells: $5.63 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.82 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $5.94 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.91 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $6.37 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.87 \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 5-HT₂R positive cells: $6.02 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.78 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $5.98 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.66 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $6.49 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.85 \times 10^4 \mu\text{m}^2$). The expression of 5-HT₁R protein and the areas of 5-HT₁R positive cells in the jejunum, terminal ileum and sigmoid colon in the treatment group ($5.57 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.83 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $5.82 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.74 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $6.02 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.81 \times 10^4 \mu\text{m}^2$), but not the areas of 5-HT₂R positive cells ($4.94 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.59 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $4.81 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.63 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 、 $5.16 \times 10^4 \mu\text{m}^2 \pm 0.79 \times 10^4 \mu\text{m}^2$), were increased in comparison with SAP group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The level of 5-HT is significantly increased in SAP, but its receptors (5-HT₁R and 5-HT₂R) are decreased, which may induce intestinal motility failure. Da-Huang may improve enteric dynamic failure by activating 5-HT₁R or increasing the expression of 5-HT₁R, and may be a choice for treatment of SAP with intestinal motility failure.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; 5-hydroxytryptamine; Intestinal motility failure; Dahuang

Xue YZ, Wu YM, Sheng YY, Lu YF, Wu TL, Liu ZL, Yu XM, Li ZS. Effect of Da-Huang on intestinal motility failure in rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3947-3953 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3947.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3947>

摘要

目的: 探讨大黄治疗大鼠重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)肠动力衰竭的可能机制。

方法: 将54只♂SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、重症急性胰腺炎肠动力衰竭组(SAP组)和大黄治疗组, 每组18只。经胆胰管内加压注射3.5%牛磺胆酸钠0.1 mL/100 g体质量制备SAP肠动力衰竭模型, 治疗组在造模前给予10%的大黄汤剂(2 mL/100 g体质量)灌胃1次, SAP组和SO组则灌注等量0.9%氯化钠溶

液。每组于造模后3、6、12 h各处死6只大鼠并立即心脏取血, 检测血清淀粉酶、脂肪酶水平, 酶联免疫吸附试验检测血清5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)含量。同时检测6 h时间点各组大鼠距屈氏韧带10 cm空肠、末端回肠及乙状结肠组织中5-HT₁R、5-HT₂R的表达情况。

结果: 造模后SAP组(淀粉酶分别为9807 U/L \pm 698 U/L、15442 U/L \pm 952 U/L、18231 U/L \pm 869 U/L, 脂肪酶分别为94 U/L \pm 23 U/L、257 U/L \pm 99 U/L、306 U/L \pm 107 U/L, 5-HT分别为1192 ng/mL \pm 142 ng/mL、1437 ng/mL \pm 114 ng/mL、1646 ng/mL \pm 163 ng/mL)和治疗组(淀粉酶分别为2238 U/L \pm 298 U/L、2313 U/L \pm 302 U/L、2289 U/L \pm 323 U/L, 脂肪酶分别为62 U/L \pm 16 U/L、71 U/L \pm 17 U/L、69 U/L \pm 15 U/L, 5-HT分别为794 ng/mL \pm 86 ng/mL、814 ng/mL \pm 83 ng/mL、798 ng/mL \pm 81 ng/mL)血清淀粉酶、脂肪酶及5-HT水平均明显高于SO组(淀粉酶分别为1853 U/L \pm 272 U/L、1959 U/L \pm 269 U/L、1897 U/L \pm 293 U/L, 脂肪酶分别为46 U/L \pm 9 U/L、54 U/L \pm 11 U/L、52 U/L \pm 14 U/L, 5-HT分别为699 ng/mL \pm 64 ng/mL、721 ng/mL \pm 76 ng/mL、705 ng/mL \pm 72 ng/mL)($P < 0.01$), 且每个时间点治疗组均较SAP组显著降低($P < 0.01$)。与SO组相比, SAP组5-HT₁R、5-HT₂R蛋白及阳性细胞面积(SAP组空肠、末端回肠及乙状结肠5-HT₁R⁺细胞面积分别为4.58万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.56$ 万 μm^2 、4.64万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.63$ 万 μm^2 、4.79万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.56$ 万 μm^2 , 5-HT₂R⁺细胞面积分别为4.89万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.61$ 万 μm^2 、4.76万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.51$ 万 μm^2 、5.03万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.73$ 万 μm^2 ; SO组空肠、末端回肠及乙状结肠5-HT₁R⁺细胞面积分别为5.63万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.82$ 万 μm^2 、5.94万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.91$ 万 μm^2 、6.37万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.87$ 万 μm^2 , 5-HT₂R⁺细胞面积分别为6.02万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.78$ 万 μm^2 、5.98万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.66$ 万 μm^2 、6.49万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.85$ 万 μm^2)表达水平在空肠、末端回肠及乙状结肠均明显下降($P < 0.05$); 与SAP组比较, 治疗组各部位5-HT₁R蛋白及阳性细胞面积(空肠、末端回肠及乙状结肠5-HT₁R⁺细胞面积分别为5.57万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.83$ 万 μm^2 、5.82万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.74$ 万 μm^2 、6.02万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.81$ 万 μm^2)表达均增高($P < 0.05$), 而5-HT₂R蛋白及阳性细胞(5-HT₂R⁺细胞面积分别为4.94万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.59$ 万 μm^2 、4.81万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.63$ 万 μm^2 、5.16万 $\mu\text{m}^2 \pm 0.79$ 万 μm^2)表达则未见增加。

结论: 血清5-HT升高及肠组织中受体降低可

能是SAP发生肠动力衰竭的原因之一, 而大黄则可能是通过激活肠组织中5-HT₁R, 或增加5-HT₁R的表达量来促进肠功能恢复.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 重症急性胰腺炎; 5-羟色胺; 肠动力衰竭; 大黄

核心提示: 重症急性胰腺炎大鼠肠动力衰竭时血清5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平明显增加, 但其受体5-HT₁、5-HT₂的表达明显下降, 从而导致5-HT与其受体亲和力降低, 这可能是SAP发生肠动力衰竭的机制之一, 而大黄可能是通过激活5-HT₁R, 或增加5-HT₁R的表达量来改善肠动力衰竭.

薛育政, 吴燕敏, 盛颖玥, 陆宇峰, 吴铁龙, 刘宗良, 俞宪民, 李兆申. 大黄治疗重症急性胰腺炎肠动力衰竭的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3947-3953 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3947.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3947>

0 引言

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT), 又名血清素(serotonin), 广泛分布于人体中, 约90%存在于胃肠道, 是体内最重要的胃肠动力调节剂之一. 近来研究显示, 人体中存在多种5-HT受体(5-HT₁R-5-HT₇R), 这些受体又各自可分成若干亚型^[1], 而与胃肠道功能密切相关的主要有5-HT₁R、5-HT₂R、5-HT₃R、5-HT₄R及5-HT₇R^[2-9].

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)常见的并发症主要是胃肠动力衰竭, 但目前对5-HT及其受体在SAP胃肠动力衰竭中的变化及作用机制鲜有报道, 本研究采用牛磺胆酸钠制备SAP大鼠肠动力衰竭模型, 观察大黄对SAP大鼠肠动力衰竭模型的血清淀粉酶、脂肪酶及5-HT含量, 并检测相应肠段黏膜中5-HT₁R、5-HT₂R的表达情况, 以探讨大黄治疗SAP胃肠动力衰竭的可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂SD大鼠54只, 体质量200 g±20 g, 由南通大学医学院实验动物中心提供, 许可证号: SYXK(苏)2002-0022, 实验期间所有动物置于同一室内, 在没有特定病原菌的环境中分笼饲养, 自由饮水, 室温21℃±4℃, 光照12 h, 黑暗12 h. 随机分为假手术组(SO)、SAP组及大黄治疗组, 每组18只. 实验过程中所有大鼠均没

有出现意外死亡.

1.2 方法

1.2.1 SAP肠动力衰竭模型的制备: 根据文献[10]的方法制备SAP肠动力衰竭模型: 大鼠术前禁食12 h, 禁水6 h, 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉, 正中切口入腹, 胆胰管十二指肠开口处用无损伤金属夹夹闭, 注射器针头向十二指肠开口方向插入胆胰管, 以0.1 mL/min速度向胆胰管内注入3.5%牛磺胆酸钠 (0.1 mL/100 g体质量, Sigma公司), 10 min后关腹. SO组大鼠开腹后仅翻动十二指肠并触摸胰腺数次后关腹. 大黄治疗组造模15 min前经胃管一次注入10%的大黄汤剂(2 mL/100 g体质量, 成都大西南制药有限公司), 而SO组和SAP组则给予等量0.9%氯化钠溶液.

1.2.2 生化指标的测定: SO组、SAP组及大黄治疗组分别于3、6、12 h时间点各处死6只大鼠, 立即心脏取血, 置入肝素钠管内, 4000 r/min离心15 min, 取上层血清, -80℃保存. 用全自动生化分析仪检测血清淀粉酶、脂肪酶水平, ELISA法测定血清5-HT含量.

1.2.3 小肠推进率的测定: 各组造模2.5 h后(即3 h时间点处死的大鼠)分别给予含有苯酚红2 mg/mL的生理盐水1.0 mL灌胃, 30 min后快速剖腹分别取出小肠. 剪下幽门下端至阑尾上端的肠管, 将其铺在纸上, 不加任何拖曳牵引, 测小肠全长和苯酚红前沿至幽门下端的距离. 苯酚红前沿如果显示不清楚, 可在疑似处剪开小肠, 然后滴加0.1 mol/L的NaOH溶液确认(显示鲜亮的玫红色), 并需在其前和后各1 cm处再次剪断滴加NaOH溶液, 加以验证, 以保证数据的准确性. 小肠推进率的计算公式为苯酚红推进的小肠长度/小肠全长×100%.

1.2.4 免疫印迹法检测肠黏膜中5-HT₁R、5-HT₂R蛋白表达情况: 分别取3组6 h时间点大鼠距屈氏韧带10 cm的空肠、末端回肠及乙状结肠组织, 量约50 mg, 常规提取总蛋白, BCA法测定样本组织中蛋白浓度, 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 湿法转膜, 脱脂奶粉封闭, 分别加入兔抗大鼠5-HT₁R、5-HT₂R多克隆抗体50 μL(1:400), 4℃过夜, 加入羊抗兔IgG-HRP 50 μL(1:500), 室温反应2 h, ECL显色, 上述实验以β-actin作为内参.

1.2.5 免疫组织化学法检测5-HT₁R⁺、5-HT₂R⁺细胞面积: 分别取3组6 h时间点大鼠距屈氏韧带10 cm的空肠、末端回肠及乙状结肠组织, 约5 mm×5 mm, 常规固定、包埋、切片, 脱蜡至水、抗

■ 相关报道

Bertoni等对5-HT₂A受体进行了研究, 假手术组给予了5-HT₂A激活剂发现可引起肠系膜缺血-再灌注损伤, 从而导致了胃肠道传输功能的延迟; 手术组给予了5-HT₂A抑制剂, 胃肠道传输功能未见延迟, 保护了胃肠道对肠系膜缺血-再灌注损伤应激效应.

■ 创新盘点

目前国内外对5-羟色胺及其受体在重症急性胰腺炎肠动力衰竭中的变化及作用机制鲜有报道,本研究采用牛磺胆酸钠制备重症急性胰腺炎大鼠肠动力衰竭模型,观察大黄对其肠黏膜中5-HT₁R、5-HT₂R的表达情况,以探讨大黄治疗重症急性胰腺炎肠动力衰竭的可能机制属国内首创。

表 1 各组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶含量比较 ($n=6$, mean \pm SD, IU/L)

	淀粉酶			脂肪酶		
	3 h	6 h	12 h	3 h	6 h	12 h
SO组	1853 \pm 272	1959 \pm 269	1897 \pm 293	46 \pm 9	54 \pm 11	52 \pm 14
SAP组	9807 \pm 698 ^b	15442 \pm 952 ^b	18231 \pm 869 ^b	94 \pm 23 ^b	257 \pm 99 ^b	306 \pm 107 ^b
大黄治疗组	2238 \pm 298 ^d	2313 \pm 302 ^d	2289 \pm 323 ^d	62 \pm 16 ^d	71 \pm 17 ^d	69 \pm 15 ^d

^b $P<0.01$ vs SO组; ^d $P<0.01$ vs SAP组。SO组: 假手术组; SAP组: 重症急性胰腺炎肠动力衰竭组。

表 2 各组大鼠血清5-羟色胺含量比较 ($n=6$, mean \pm SD, ng/mL)

	5-羟色胺		
	3 h	6 h	12 h
SO组	699 \pm 64	721 \pm 76	705 \pm 72
SAP组	1192 \pm 142 ^b	1437 \pm 114 ^b	1646 \pm 163 ^b
大黄治疗组	794 \pm 86 ^d	814 \pm 83 ^d	798 \pm 81 ^d

^b $P<0.01$ vs SO组; ^d $P<0.01$ vs SAP组。SO组: 假手术组; SAP组: 重症急性胰腺炎肠动力衰竭组。

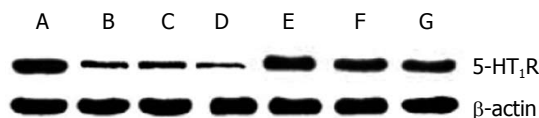


图 1 各组大鼠6 h点不同部位肠黏膜中5-HT₁R蛋白的表达。A: SO组; B: SAP组空肠; C: SAP组末端回肠; D: SAP组乙状结肠; E: 大黄治疗组空肠; F: 大黄治疗组末端回肠; G: 大黄治疗组乙状结肠。5-HT₁R: 5-羟色胺受体。

原修复, 分别加5-HT₁R、5-HT₂R一抗50 μ L(1:300), 37 $^{\circ}$ C孵育1 h后4 $^{\circ}$ C过夜, 加辣根过氧化物酶标记的二抗50 μ L, 室温孵育各20 min, DAB显色, 复染、脱水、封片。结果判断: 胞浆染色呈棕色者判定为阳性细胞。每张切片选择5个高倍镜视野(400 \times), 应用Leica RX250型图像分析系统进行定量灰度扫描, 以及Qwin软件分别进行分析, 并自动计算5-HT₁R⁺、5-HT₂R⁺细胞面积。

1.2.6 胰腺组织病理学诊断: 胰腺组织经HE染色后, 由两位专业的病理医师双盲阅片, 每组随机取3张切片, 每张切片随机选取10个高倍视野, 以水肿、感染、出血和坏死评价胰腺组织损伤的程度。

统计学处理 实验数据录入SPSS18.0统计软件包, 所有数据均以mean \pm SD表示, 组间以 t 检验进行统计学处理, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清淀粉酶及脂肪酶含量比较 与SO组比较, SAP组和大黄治疗组在造模后各时

间点血清淀粉酶明显升高, 其中SAP组与SO组比较差异有统计学意义($P<0.01$); 与SAP组比较, 大黄治疗组各时间点血清淀粉酶明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$); SAP组血清淀粉酶水平随观察时间的延长呈依赖性增加。各组大鼠血清脂肪酶变化与淀粉酶变化一致(表1)。

2.2 各组大鼠血清5-HT及IL-6含量比较 与SO组相比, SAP组、治疗组5-HT含量在造模后3、6、12 h明显升高, 其中SAP组与SO组比较差异有统计学意义($P<0.01$); 与SAP组比较, 大黄治疗组各时间点血清5-HT明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$); 且SAP组血清5-HT含量随观察时间的延长呈依赖性增加(表2)。

2.3 各组大鼠小肠推进率的比较 SAP组小肠推进率在3 h时间点为25.72% \pm 4.52%, 与SO组63.52% \pm 10.5%比较明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$); 治疗组小肠推进率在3 h时间点为61.45% \pm 9.11%, 与SAP组比较差异有统计学意义($P<0.01$), 而与SO组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 各组大鼠不同部位肠黏膜中5-HT₁R、5-HT₂R蛋白的表达 与SO组比较, SAP组于造模后6 h点5-HT₁R、5-HT₂R蛋白表达水平在空肠、末端回肠及乙状结肠处均明显减少; 与SAP组比较, 大黄治疗组上述部位5-HT₁R蛋白表达均增加, 但较SO组表达降低, 而5-HT₂R蛋白表达均未明显增加(图1)。

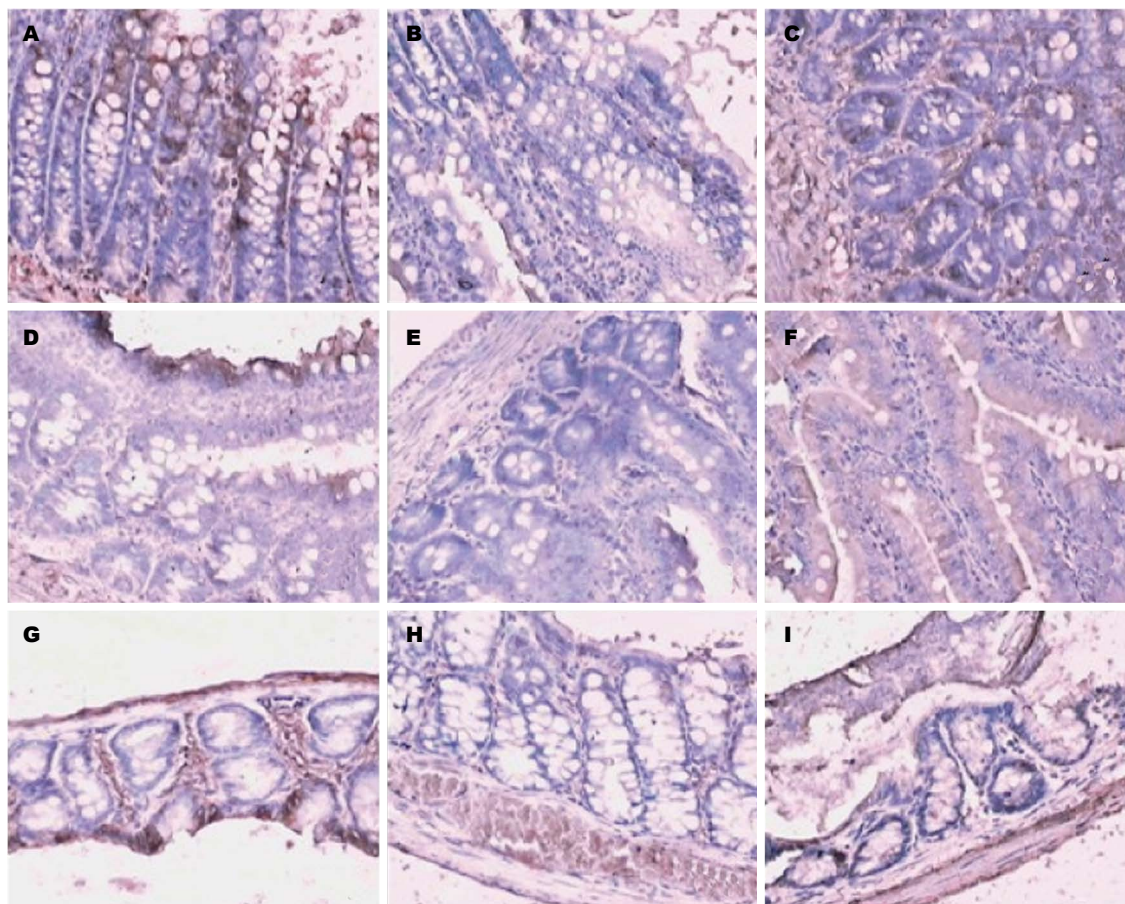
表 3 各组大鼠不同部位肠黏膜中5-HT₁R⁺及5-HT₂R⁺细胞面积比较 ($n = 6$, mean \pm SD, $\times 10^4 \mu\text{m}^2$)

	5-HT ₁ R ⁺ 细胞面积			5-HT ₂ R ⁺ 细胞面积		
	空肠	末端回肠	乙状结肠	空肠	末端回肠	乙状结肠
SO组	5.63 \pm 0.82	5.94 \pm 0.91	6.37 \pm 0.87	6.02 \pm 0.78	5.98 \pm 0.66	6.49 \pm 0.85
SAP组	4.58 \pm 0.56 ^b	4.64 \pm 0.63 ^b	4.79 \pm 0.56 ^b	4.89 \pm 0.61 ^b	4.76 \pm 0.51 ^b	5.03 \pm 0.73 ^b
大黄治疗组	5.57 \pm 0.83 ^d	5.82 \pm 0.74 ^d	6.02 \pm 0.81 ^d	4.94 \pm 0.59	4.81 \pm 0.63	5.16 \pm 0.79

^b $P < 0.01$ vs SO组; ^d $P < 0.01$ vs SAP组.

■应用要点

中药大黄能有效改善重症急性胰腺炎患者肠动力衰竭, 且来源广泛、给药方便、价格便宜, 建议可将其作为重症急性胰腺炎肠动力衰竭的有效治疗方法。

图 2 各组大鼠不同部位肠黏膜中5-HT₁R⁺细胞面积. A: SO组空肠; B: SAP组空肠; C: 治疗组空肠; D: SO组末端回肠; E: SAP组末端回肠; F: 治疗组末端回肠; G: SO组乙状结肠; H: SAP组乙状结肠; I: 治疗组乙状结肠.

2.5 各组大鼠不同部位肠黏膜中5-HT₁R⁺、5-HT₂R⁺细胞面积 SAP组于造模后6 h点空肠、末端回肠及乙状结肠5-HT₁R⁺细胞面积分别与SO组比较明显减少, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05). 治疗组于造模后6 h点空肠、末端回肠及乙状结肠5-HT₁R⁺细胞面积分别与SAP组相同部位比较5-HT₁R⁺细胞面积明显增加, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05 , 图2, 表3). 与SO组比较, SAP组于造模后6 h点相同部位5-HT₂R⁺细胞面积明显减少, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05); 但治疗组上述部位5-HT₂R⁺细胞面积较SAP组比

较, 均未见明显增加(P 均 > 0.05 , 表3).

2.6 SO组及SAP组大鼠胰腺组织病理学改变 SO组大鼠各时间点胰腺组织病理学改变基本相同, 可见胰腺部分间质水肿, 少量炎性细胞浸润, 偶可见点状出血, 极少量腺泡细胞坏死. SAP组大鼠胰腺组织病理学改变随着造模时间延长, 改变越明显: 造模后3 h可见明显的小叶间水肿, 散在片状出血, 较多炎性细胞浸润, 部分腺泡细胞变性坏死; 造模后6、12 h可见大量炎性细胞浸润, 片状出血显著, 胰腺小叶结构被破坏, 大量腺泡细胞坏死(图3). 结合本实验3 h时间点SAP

■同行评价

本文选题新颖、科学,方法正确,资料齐全,研究结果可靠,值得临床应用。

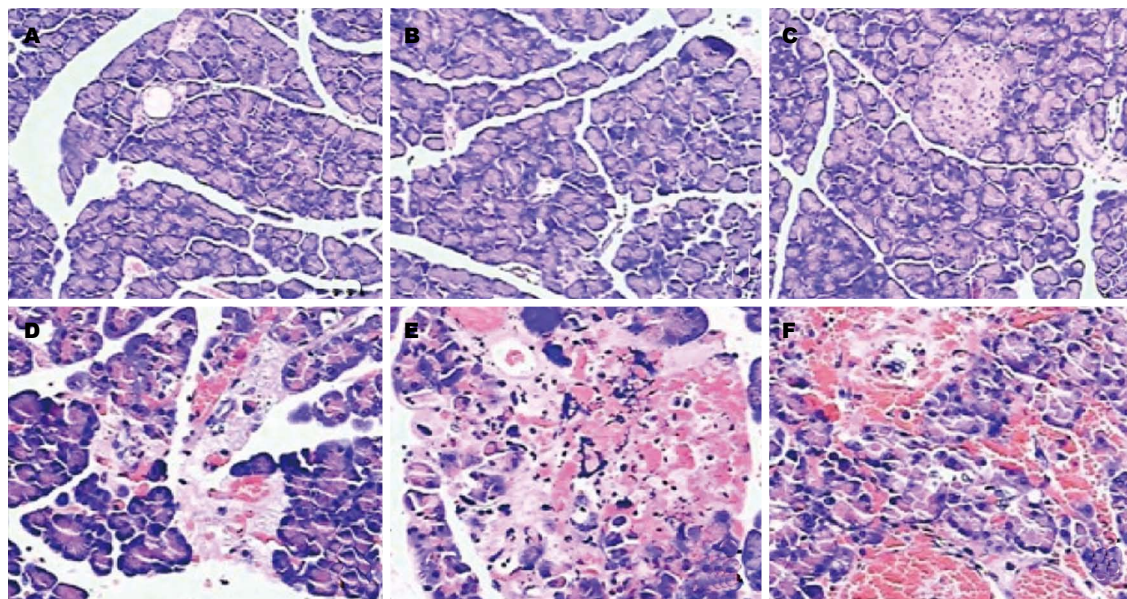


图3 两组大鼠胰腺组织病理学改变(HE染色×400)。A: SO组胰腺组织3 h; B: SO组胰腺组织6 h; C: SO组胰腺组织12 h; D: SAP组胰腺组织3 h; E: SAP组胰腺组织6 h; F: SAP组胰腺组织12 h。

组小肠推进率与SO组比较明显降低,提示本研究采用牛磺胆酸钠制备SAP大鼠肠动力衰竭模型成功。

3 讨论

SAP具有病情重、并发症多等特点,病死率高达30%-50%^[11,12]。近年来,随着人们生活水平的提高,生活方式和饮食习惯的改变,SAP的发病率呈逐年增高的趋势^[13]。胃肠动力衰竭是SAP最常见的并发症之一,其可导致肠黏膜的屏障功能减弱甚至丧失、肠道内菌群及内毒素移位,进而引起肠源性感染甚至多脏器功能衰竭^[14],最终导致SAP患者死亡率增加。大量研究表明,SAP患者早期恢复胃肠动力,可显著降低其他并发症的发生率及死亡率,提高抢救成功率及治愈率。

传统医学认为SAP早期发病机制的中心环节在于气机不畅,腑气不通,气机升降失司,气滞血瘀,故通里攻下、活血化瘀是中医早期治疗该病的主要方法。大黄性寒味苦,具有攻积滞、清湿热、泻火、凉血、祛瘀、解毒等功效,是通里攻下的代表中药。有研究表明,大黄可通过以下两方面治疗急性胰腺炎:一是大黄对与急性胰腺炎直接有关的几种酶如胰蛋白酶、胰弹性蛋白酶、胰糜蛋白酶、胰激肽释放酶和胰脂肪酶具有明显的抑制作用^[15],本研究结果显示大黄治疗组与SAP组相比,血清淀粉酶及脂肪酶水平明显下降,与严鸣等^[16]研究结果基本一

致;本研究对血清5-HT含量进行了测定,结果显示:与SO组相比,SAP组、大黄治疗组5-HT含量在造模后各时间点均明显升高;而大黄治疗组各时间点血清5-HT含量较SAP组同时时间点均明显降低。另外,本研究还检测了各组大鼠距屈氏韧带10 cm的空肠、末端回肠及乙状结肠组织中5-HT₁R、5-HT₂R蛋白表达水平的变化及肠黏膜中5-HT₁R⁺、5-HT₂R⁺细胞面积的变化,结果表明,SAP组每个部位各时间点5-HT₁R、5-HT₂R蛋白、5-HT₁R⁺及5-HT₂R⁺细胞面积较SO组均显著下降,但血清中5-HT含量明显增加,由此推测,5-HT与其受体不能有效地结合可能是导致SAP肠动力衰竭的机制之一^[17]。与SAP组相比,大黄治疗组每个部位各时间点5-HT₁R及5-HT₁R⁺细胞面积显著增加,血清5-HT相同时间点含量显著下降,而5-HT₂R及5-HT₂R⁺细胞面积未见明显增加,此结果提示大黄有效恢复SAP大鼠肠动力的机制可能是:大黄自身作为5-HT₁R激动剂或其直接增加5-HT₁R的表达,从而有效恢复5-HT与5-HT₁R的亲合力,消耗血清5-HT,进而使SAP肠动力得以恢复。

总之,本研究表明SAP大鼠肠动力衰竭时血清5-HT水平明显增加,但其受体5-HT₁、5-HT₂的表达明显下降,从而导致5-HT与其受体亲和力降低,这可能是SAP发生肠动力衰竭的机制之一,而大黄可能是通过激活5-HT₁R,或增加5-HT₁R的表达量来改善肠动力衰竭。中药大黄来源广泛、给药方便、价格便宜,建议可将其

作为SAP肠动力衰竭的有效治疗方法。

4 参考文献

- Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behav Brain Res* 2008; 195: 198-213 [PMID: 18571247 DOI: 10.1016/j.bbr.2008.03.020]
- Delesalle C, van Acker N, Claes P, Deprez P, de Smet I, Dewulf J, Lefebvre RA. Contractile effects of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the equine jejunum circular muscle: functional and immunohistochemical identification of a 5-HT1A-like receptor. *Equine Vet J* 2008; 40: 313-320 [PMID: 18267888 DOI: 10.2746/042516408X278193]
- Moro E, Crema F, De Ponti F, Frigo G. Triptans and gastric accommodation: pharmacological and therapeutic aspects. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 85-92 [PMID: 14971822 DOI: 10.1016/j.dld.2003.09.012]
- Bertoni S, Ghizzardi P, Cattaruzza F, Ballabeni V, Impicciatore M, Tognolini M, Lagrasta CA, Barocelli E. Evidence for the involvement of 5-HT2A receptors in mild mesenteric ischemia/reperfusion dysfunctions in mice. *Pharmacol Res* 2007; 56: 550-555 [PMID: 18024056 DOI: 10.1016/j.phrs.2007.10.004]
- Wouters MM, Gibbons SJ, Roeder JL, Distad M, Ou Y, Strege PR, Szurszewski JH, Farrugia G. Exogenous serotonin regulates proliferation of interstitial cells of Cajal in mouse jejunum through 5-HT2B receptors. *Gastroenterology* 2007; 133: 897-906 [PMID: 17854596 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.017]
- Chetty N, Irving HR, Coupar IM. Activation of 5-HT3 receptors in the rat and mouse intestinal tract: a comparative study. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 1012-1021 [PMID: 16770318 DOI: 10.1038/sj.bjp.0706802]
- 朱晓蕾, 李运红, 徐肇敏, 陈隆典, 邹小平, 陈蕾蕾. 腹泻型肠易激综合征结肠黏膜5-HT3受体的研究. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2006; 26: 563-566
- Liu M, Geddis MS, Wen Y, Setlik W, Gershon MD. Expression and function of 5-HT4 receptors in the mouse enteric nervous system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G1148-G1163 [PMID: 16037544 DOI: 10.1152/ajpgi.00245.2005]
- Gershon MD, Liu MT. Serotonin and neuroprotection in functional bowel disorders. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19 Suppl 2: 19-24 [PMID: 17620084 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00962.x]
- Lankisch PG, Ihse I. Bile-induced acute experimental pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 257-260 [PMID: 3589495 DOI: 10.3109/00365528709078588]
- Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60107-5]
- Cappell MS. Acute pancreatitis: etiology, clinical presentation, diagnosis, and therapy. *Med Clin North Am* 2008; 92: 889-923, ix-x [PMID: 18570947 DOI: 10.1016/j.mcna.2008.04.013]
- Swaroop VS, Chari ST, Clain JE. Severe acute pancreatitis. *JAMA* 2004; 291: 2865-2868 [PMID: 15199038 DOI: 10.1001/jama.291.23.2865]
- 刘晓臣, 彭燕. 肠屏障功能障碍与重症急性胰腺炎. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3131-3135
- 陈晓理, 冉瑞图. 大黄治疗坏死性胰腺炎的机理探讨. *华西医科大学学报* 1996; 27: 418-421
- 严鸣, 杨兴易, 陈德昌, 许永华, 郭昌星. 大黄对重症急性胰腺炎并发急性呼吸窘迫综合征的治疗作用. *胃肠病学* 2001; 6: 94-96
- 薛育政, 吴燕敏, 盛颖玥, 余利华, 俞宪民, 林琳, 施瑞华, 李兆申. 5-羟色胺及其受体在大鼠重症急性胰腺炎肠动力障碍中的表达. *中华消化杂志* 2013; 33: 538-543

编辑 田滢 电编 鲁亚静



*hMLH1*甲基化、MSI与胃癌关系的研究进展

毛远天, 刘金禄, 王震, 陈业阳, 陈俊强

■背景资料

胃癌的形成是一个多基因参与、多步骤的复杂过程,其确切发病机制尚不清楚。*hMLH1*是一个重要的错配修复基因,对维持基因组的稳定具有重要作用。该基因发生甲基化可导致其表达减少或缺失,常表现为微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)。研究表明,*hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的发生发展关系密切。因此,明确其在胃癌中的作用机制及其相互关系将为胃癌的诊疗提供新的方向。

毛远天, 刘金禄, 王震, 陈业阳, 陈俊强, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021
毛远天, 在读硕士, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81360370
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFDA239001
广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 重2012067
广西教育厅科研基金资助项目, No. 201012MS062
作者贡献分布: 本文综述由毛远天完成; 刘金禄、王震及陈业阳修改; 陈俊强审校。
通讯作者: 陈俊强, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科. gxmufh@163.com
电话: 0771-5351990
收稿日期: 2013-08-20 修回日期: 2013-09-17
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Relationship between *hMLH1* methylation, microsatellite instability and gastric cancer

Yuan-Tian Mao, Jin-Lu Liu, Zhen Wang, Ye-Yang Chen, Jun-Qiang Chen

Yuan-Tian Mao, Jin-Lu Liu, Zhen Wang, Ye-Yang Chen, Jun-Qiang Chen, Department of Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81360370; the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2012GXNSFDA239001; the Key Research Project of Guangxi Health Bureau, No. 2012067; and the Research Project of Guangxi Education Department, No. 201012MS062
Correspondence to: Jun-Qiang Chen, Professor, Chief Physician, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. gxmufh@163.com
Received: 2013-08-20 Revised: 2013-09-17
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignant tumors, and its development is a very complicated process. Although great progress has been made in the understanding of gastric cancer, its exact mechanism is still unclear. The human mutL homolog 1 (*hMLH1*), a main member of the mismatch repair system, participates in mismatch repair during DNA replication, and plays an important role in maintaining genome stability. The reduction or loss of *hMLH1*

expression, which often shows as microsatellite instability (MSI), is closely related to the development, treatment and prognosis of gastric cancer, and the main reason is *hMLH1* promoter methylation. In this paper, we will review the recent progress in understanding the relationship between *hMLH1* methylation, MSI and development, treatment and prognosis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *hMLH1* methylation; Microsatellite instability; Gastric cancer

Mao YT, Liu JL, Wang Z, Chen YY, Chen JQ. Relationship between *hMLH1* methylation, microsatellite instability and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3954-3960 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3954.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3954>

摘要

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发生、发展是一个复杂的过程。虽然人们对胃癌的认识已经有了很大的进步,但其确切的发生机制尚不清楚。Human mutL homolog 1(*hMLH1*)是错配修复系统中的主要成员之一,在DNA复制时参与错配修复功能,对维持基因组的稳定具有重要作用。*hMLH1*表达的减少或缺失与胃癌的发生发展、治疗及预后密切相关,其主要原因是*hMLH1*发生甲基化,常表现为微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)。本文就*hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的发生发展、治疗及预后关系的研究现状作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: *hMLH1*甲基化; 微卫星不稳定; 胃癌

核心提示: *hMLH1*表达的减少或缺失可导致DNA错配修复功能降低,这与胃癌的发生发展、治疗及预后密切相关,其主要原因是*hMLH1*发生甲基化,常表现为微卫星不稳定。

毛远天, 刘金禄, 王震, 陈业阳, 陈俊强. *hMLH1*甲基化、MSI与胃

■同行评议者
王蔚虹, 教授, 主任医师, 北京大学第一医院消化内科

癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3954-3960
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3954.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3954>

0 引言

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在全球癌症死亡相关因素中, 胃癌排在第2位, 仅次于肺癌^[1]. 胃癌的发生发展过程复杂, 至少经过了6个发展阶段: 浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、胃腺瘤、胃不典型增生和胃癌^[2], 他与许多遗传学和表观遗传学的改变有关, 如生长因子/受体、血管生成因子、细胞周期调节因子和DNA错配修复(mismatch repair, *MMR*)基因等多种因素的异常^[3]. *MMR*基因是一组保守基因, 具有修复DNA错配、维持基因组稳定和降低自发性突变的功能^[4,5]. DNA错配修复系统的功能降低或丧失, 主要表现为MSI^[6]. *hMLH1*基因是MMR系统中的重要成员之一, 该基因发生甲基化可导致其表达减少或缺失, 常表现为MSI. *hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的发生发展、治疗及预后关系密切. 近几年来, 学者们对此有了一些新的认识, 也提出了一些新的问题, 现综述如下.

1 *hMLH1*、DNA甲基化和MSI简介

*hMLH1*基因是1994年在研究遗传性非息肉性结直肠癌的过程中由Bronner等^[7]首先发现的, 位于染色体3p21.3-23, 基因组全长约58 kb, 含19个外显子, 含2268 bp的开放阅读框(open reading frame, ORF), 编码一种由756个氨基酸残基组成的蛋白质, 与酵母的*hMLH1*蛋白有41%的同源性, 保守区同源性51%^[8,9].

DNA甲基化是常见的表观遗传学改变方式之一, 也是目前唯一已知的DNA天然修饰方式, 其发生过程主要是以S-腺苷蛋氨酸为甲基供体, 在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下, 将胞嘧啶(C)变为5-甲基胞嘧啶(5-mC), 而后者本身并不稳定, 能自发脱氨基形成胸腺嘧啶, 从而影响基因的正确表达. DNA甲基化主要发生在基因启动子或第一外显子处, 该处CpG二核苷酸的胞嘧啶高度聚集, 也称为CpG岛. 正常生理条件下绝大部分CpG岛处于非甲基化状态, 在肿瘤组织中则常处于过甲基化状态, 导致基因沉默而失活. 第一个DNA错配修复基因*hMLH1*和*hMSH2*甲基化于1999年在胃癌中得到确认^[10].

微卫星(microsatellite, MS)是广泛分布于原

核和真核生物基因组中具有高度多态性的简单短串联核苷酸的重复序列, 重复序列中的重复单位相同, 其重复单位在1-10 bp, 一般为2-6 bp重复. 微卫星DNA序列定位于基因的内含子、基因编码区、启动子、内含子与外显子的交界区, 通过改变DNA的结构或通过特异的蛋白结合而发挥基因调控作用, 是多态信息含量极高的分子标志. MSI首先在遗传性非息肉性大肠癌中发现^[11], 是指具有高度多态性的简单串联重复序列的改变, 多由于DNA错配修复系统改变, 无法修复DNA在复制过程中发生的错误引起. 产生MSI可能的机制是DNA复制过程中滑动或修复时滑动链与互补链碱基错配, 导致一个或几个重复单位的插入或缺失, 由于重复拷贝数发生大的变化而使某些重要功能的基因发生功能改变, 其中涉及到的重要基因是错配修复基因(如*hMLH1*、*hMSH2*、*hMSH6*等)^[12,13], 其准确机制尚有待进一步研究. 目前肿瘤组织MSI的诊断尚无统一标准, 参照1997年美国国立癌症研究所的标准, 推荐首选的5个MS位点, 即BAT25、BAT26、D5S346、D2S123和D17S250. 有2个或2个以上阳性位点为高度MSI(MSI-H), 如有1个阳性位点为低度MSI(MSI-L), 如无阳性位点为MS稳定(MSS).

2 *hMLH1*在胃癌中的表达

*hMLH1*作为主要的错配修复基因之一, 在DNA的复制过程中扮演着重要的错配修复功能, 其表达减少或缺失都会削弱DNA错配修复的能力. 在许多肿瘤中, 都出现*hMLH1*表达的减少或缺失. Baek等^[8]对胃癌的研究中发现, 在8%的MSI阳性腺瘤与88%的癌中可见*hMLH1*表达缺失或减少. 夏颀等^[14]研究表明, *hMLH1*基因在癌组织中的表达明显少于癌旁及胃炎组织, 而癌旁组织和胃炎的*hMLH1*表达差别没有统计学意义. 引起*hMLH1*表达减少的原因主要有2个: 基因突变和甲基化. 在胃癌中, DNA甲基化比基因突变更常见^[15], *hMLH1*发生甲基化是导致*hMLH1*表达失活的主要原因. 尽管许多研究表明肿瘤中*hMLH1*表达减少或缺失, 但另一些研究者却持完全相反的观点. Li等^[16]研究了191例胃癌组织、133例癌旁组织和42例非胃癌患者的正常胃黏膜组织, 发现其*hMLH1*表达分别为80.1%(153/191)、60.2%(80/133)和31.0%(13/42), 三者之间差别均有统计学意义, 癌组织*hMLH1*表达明显高于癌旁组织和非胃癌患者的正常胃

■研究前沿

*hMLH1*甲基化、MSI在胃癌中的研究目前主要集中在其与胃癌的发生发展及预后的关系、作用机制及胃癌中*hMLH1*发生甲基化的相关因素等方面, 而其在胃癌耐药方面的研究尚未见相关报道.

■相关报道

Alves等研究发现, *hMLH1*甲基化与胃癌的类型、部位有关, 在肠型非贲门癌中发生率较高; 但其与胃癌患者的性别和肿瘤分期无关。该研究认为在贲门部弥漫型和非贲门部肠型胃癌中可能存在着两种截然不同的发生机制, 前者为CDKN2A甲基化使其表达失活途径, 后者为*hMLH1*甲基化致其表达失活途径。

黏膜组织。在其他一些恶性肿瘤如胶质母细胞瘤^[17]、支气管肺泡细胞癌^[18]、膀胱癌^[19]也发现了*hMLH1*或*hMSH2*表达增加。出现这种现象可能的机制是在正常生理状态下, *hMLH1*、*hPMS2*基因处于低转录状态, 肿瘤细胞过度增殖时会伴有DNA碱基错配增多, 从而引起错配修复蛋白代偿性表达增多; 另一种可能的原因*hMLH1*、*hPMS2*基因可能存在突变产生不全蛋白, 导致错配基因不能被修复, 从而形成恶性循环, 导致*hMLH1*、*hPMS2*蛋白不断积累, 含量增加。

3 胃癌中*hMLH1*发生甲基化的相关因素

*hMLH1*发生甲基化与饮食、年龄、感染等诸多因素有关。印度克什米尔人群有饮热咸茶的习惯, 胃癌发生率较高, 有研究者对该地区胃癌患者做了相关研究, 发现31-60岁和61-90岁这两组胃癌患者与*hMLH1*、*E-cadherin*和*p16*异常甲基化都明显相关, 因此该研究者认为这3个基因异常甲基化与当地饮热咸茶的习惯有关, 这种茶能诱导基因异常甲基化, 从而使肿瘤抑制基因表达失活, 导致胃癌的发生^[20]。Wani等^[21]对该地区胃癌人群又做了进一步研究, 结果显示频繁摄入晒干蔬菜(>1次/wk)、热咸茶(>6杯/d, 250 mL/杯)和过少摄入新鲜水果(<4次/wk) *hMLH1*甲基化发生率明显高于对照组, 分别为81.82% vs 18.18%, 86.48% vs 13.51%和100% vs 0%, 这又进一步证实了饮食习惯与*hMLH1*甲基化存在密切关系, 说明*hMLH1*甲基化可能在一定程度上促进了胃癌的形成。许多肿瘤的发生与年龄相关, 随着年龄的增长, 机体内许多功能也随之发生改变。Kim等^[22]根据年龄把胃癌患者分为两组, 发现老年胃癌患者的*hMLH1*、*hMSH2*甲基化发生率(26%和24%)明显高于年轻胃癌患者(14%和15%), 提示年龄因素在*hMLH1*发生甲基化过程中起着重要的作用。Nakajima等^[23]也做了这方面的研究, 发现*hMLH1*异常表达和*hMLH1*甲基化的频率随着年龄的增长而增加, 81岁以上的胃癌患者*hMLH1*异常表达和*hMLH1*甲基化的频率分别为27.3%和18.2%, 而60岁以下的胃癌患者的发生频率分别为4.2%和0%, 这表明胃癌患者中*hMLH1*甲基化存在明显的年龄相关性。类似的现象在其他研究中也报道^[24-26]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是被国际癌症机构确认的致癌原, 在胃癌的形成过程中发挥着重要作用^[27], 但是其致癌机制仍不明确。有报道称*H. pylori*可以通过环氧化物酶-2-前列腺素2途

径参与胃癌发生^[28], *K-ras*基因突变也可能是*H. pylori*致癌机制之一^[29]。*H. pylori*感染是否能促进DNA甲基化仍存在争议。有研究表明, DNA甲基化与*H. pylori*感染有关^[30-32], 而另一些研究者则持相反观点^[33-35]。为此, Alves等^[36]做了进一步的研究, 他们对*H. pylori*感染阳性的胃癌样本经过*H. pylori*基因分型后发现*H. pylori vacA s1*亚型与*hMLH1*甲基化明显相关, 而其他基因型则无此相关性。因此, *H. pylori*感染是否与*hMLH1*甲基化有关可能取决于*H. pylori*的基因型, 这在一定程度上可以解释这一问题存在的争议, 提示*hMLH1*甲基化也可能是*H. pylori*感染导致胃癌发生的机制之一。此外, EBV感染^[35]、吸烟^[21]等也可使DNA发生甲基化。

4 *hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的临床病理关系

基因甲基化异常、基因突变和染色体异常都能使肿瘤相关基因永久失活。在胃癌中基因甲基化较后两者更为常见。有研究发现, 胃癌相关基因*MLF1*、*MGMT*、*p16*、*RASSF2*、*hMLH1*、*HAND1*、*HRASLS*、*TM*和*FLNc*等频繁发生甲基化, 发生率为8%-51%^[37-41]。Wani等^[21]研究表明, 胃癌组织的*hMLH1*甲基化发生率(72.9%)明显高于非胃癌组织(20%), 这说明*hMLH1*甲基化与胃癌的发生发展有关。进一步研究发现, *hMLH1*甲基化与胃癌的分化呈负相关^[41]。此外, Alves等^[36]发现*hMLH1*甲基化与胃癌的类型、部位有关, 在肠型非贲门部胃癌中发生率明显增高, 但与胃癌患者的性别和肿瘤分期无关。该研究认为在贲门部弥漫型和非贲门部肠型胃癌中可能存在着两种截然不同的发生机制, 前者为CDKN2A甲基化使其表达失活途径, 后者为*hMLH1*甲基化致其表达失活途径。

*hMLH1*表达减少或缺失会发生MSI, 这与胃肠道等多种肿瘤的形成关系密切。有学者研究发现MSI在胃癌中的发生率为15%-20%, 其可能的机制为*hMLH1*甲基化^[42,43]。更进一步的研究表明, *hMLH1*甲基化与MSI分型有关, 在MSI-H型胃癌中有较高的发生率^[44,45]。因此, 有学者认为, 在基因型和表型中是否有MSI-H可能是相同肿瘤具有不同生物学特征和临床特性的原因之一^[6]。针对MSI-H型胃癌, Seo等^[46]做了有关临床病理特征的研究, 结果MSI-H与患者的年龄、肿瘤的位置、大小和类型有关, 在老年胃癌(>70岁)、远端胃癌、大直径肿瘤及肠型胃癌中具有较高的发生率, 而与淋巴结转移、pTNM分期和生存

率无关. 然而, 有学者的研究结果与之并不完全一致, 他们发现MSI-H不仅与患者的年龄、肿瘤的位置、大小和类型有关, 还与淋巴结转移、pTNM分期和预后关系密切, 其认为MSI-H型胃癌患者具有淋巴结转移率低、分期早、预后好的特点^[44,47,48]. 从上面的研究结果我们可以推测, MSI-H可能是早期胃癌的一种生物学标志. 但最近学者在研究早期胃癌的进展过程中发现MSI-H是由于DNA甲基化逐渐积累而从MSI-L或MSS发展而来的. 这与先前研究发现的MSI-L及MSS多出现在晚期胃癌中的结果不一致. 因此, 要阐明MSI在胃癌中的确切作用机制仍需进一步的研究.

5 *hMLH1*甲基化的治疗

表观遗传学的修饰具有可逆性, 因此在肿瘤或癌前病变中可通过去甲基化或乙酰化的方法恢复相关抑癌基因的表达, 从而达到预防或治疗肿瘤的目的. 目前去甲基化作用的药物有DNMTs抑制剂, 如5-氮杂胞嘧啶核苷(5-Azacytidine, 5-Aza-CR)及其脱氧类似物5-氮杂脱氧胞嘧啶核苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-CdR), 他们都是有效的DNMTs抑制剂, 可通过DNA复制过程中取代胞嘧啶或与DNMTs形成共价键抑制DNMTs活性, 从而达到抑制DNA甲基化的效果^[49]. 但是这两种药物在水溶液中不稳定且有毒性, 因此在临床应用中存在局限性. Zebularine[1-(beta-D-ribofuranosyl)-1,2-dihydropyrimidin-2-one]是另一种抑制DNA甲基化的药物, 其具有化学稳定性和细胞毒性低的特点, 对肿瘤细胞具有高选择性生长抑制作用, 而对正常细胞影响小^[50]. Zebularine可全部消除DNMT1, 但只能部分消除DNMT3a和DNMT3b, 因此与其余两种酶的抑制剂联合使用才能达到更好的作用效果^[51]. Cheng等^[52]研究发现, 在使用5-Aza-CdR后相继使用Zebularine, 将有效地诱导并稳定*p16*基因的表达, 因此这两种药物的组合使用将具有广阔的应用前景.

6 *hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的预后

肿瘤的预后是临床医生和患者都十分关注的问题, 他与诸多因素有关, 表观遗传学改变为其中因素之一. Shi等^[41]研究发现, *hMLH1*甲基化可明显增加胃癌患者的死亡风险(OR = 3.16, 95%CI: 1.04-9.64, $P < 0.05$), 降低其生存率($P = 0.03$), 经过进一步分析发现, 与晚期胃癌患者相比, *hMLH1*

甲基化与早期胃癌患者差的预后关系更加密切. 而Greddert等^[53]的研究发现, *hMLH1*、*hMSH2*和*hMSH6*表达缺失的肿瘤患者通常具有良好的预后, 但肿瘤患者在辅以5-FU化疗后, MMR缺失者比未缺失者生存率更低. Falchetti等^[54]对159例MSI胃癌患者进行单因素统计分析发现MSI-H型胃癌的7年生存率($48.2\% \pm 9.6\%$)明显高于MSS/MSI-L($28.0\% \pm 3.4\%$), 差别有统计学意义($P = 0.03$); 他们以MSI和pN状态绘制第15年的生存曲线, 采用Kaplan-Meier分析发现胃癌MSI-H型与长期生存明显相关($P = 0.0001$), MSI-H/pN0生存率最高(70.0%). 然而, Ribic等^[55]研究发现辅以5-FU化疗只对MSS型结直肠癌患者预后的改善有利. 因此, 目前*hMLH1*甲基化、MSI-H对胃肠肿瘤患者预后的影响尚有争议, 要明确其相关性, 仍需要更多的研究证据.

7 结论

*hMLH1*甲基化、MSI与胃癌的发生、发展及预后密切相关, 但其具体作用仍存有争议. 他们能否作为胃癌发生发展的生物学标志物以及指导临床治疗和判断预后的指标, 有待进一步的研究. 随着对其了解地深入, 人们将逐渐步阐明*hMLH1*、MSI在胃癌中的确切致病机制及其相互关系, 这将为胃癌的诊断、治疗和预后的判断提供新的思路和方法.

8 参考文献

- 1 Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29 [PMID: 14974761 DOI: 10.3322/canjclin.54.1.8]
- 2 Correa P. International cancer epidemiology meetings. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1992; 1: 245-247 [PMID: 1363968]
- 3 Xiao XQ, Gong WD, Wang SZ, Zhang ZD, Rui XP, Wu GZ, Ren F. Polymorphisms of mismatch repair gene *hMLH1* and *hMSH2* and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Oncol Lett* 2012; 3: 591-598 [PMID: 22740958]
- 4 Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie* 2002; 84: 27-47 [PMID: 11900875 DOI: 10.1016/S0300-9084(01)01362-1]
- 5 Kulke MH, Thakore KS, Thomas G, Wang H, Loda M, Eng C, Odze RD. Microsatellite instability and *hMLH1*/*hMSH2* expression in Barrett esophagus-associated adenocarcinoma. *Cancer* 2001; 91: 1451-1457 [PMID: 11301392 DOI: 10.1002/1097-0142(20010415)91:8<1451::AID-CNCR1152>3.0.CO;2-Z]
- 6 Imai K, Yamamoto H. Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics. *Carcinogenesis* 2008; 29: 673-680 [PMID: 17942460 DOI: 10.1093/carcin/

■创新盘点

本文阐述*hMLH1*甲基化、MSI与胃癌临床病理特征、生物学特性及预后关系的新进展, 并概括胃癌中引起*hMLH1*甲基化的相关因素, 同时也对目前该领域仍存在的一些争议作了总结.

■应用要点

- 现有研究表明, *hMLH1* 甲基化、MSI与胃癌关系密切, 进一步阐明其确切的作用机制将可能为胃癌的临床诊疗及预后判断提供新的方法。文中也对胃癌中引起*hMLH1* 甲基化的相关因素作了总结, 这对胃癌的预防具有一定的参考价值。
- 7 Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, Kane M, Earabino C, Lipford J, Lindblom A. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue *hMLH1* is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994; 368: 258-261 [PMID: 8145827 DOI: 10.1038/368258a0]
 - 8 Baek MJ, Kang H, Kim SE, Park JH, Lee JS, Paik YK, Kim H. Expression of *hMLH1* is inactivated in the gastric adenomas with enhanced microsatellite instability. *Br J Cancer* 2001; 85: 1147-1152 [PMID: 11710827 DOI: 10.1054/bjoc.2001.2051]
 - 9 Peltomäki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 2001; 488: 77-85 [PMID: 11223406 DOI: 10.1016/S1383-5742(00)00058-2]
 - 10 Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, Shi YQ, Rhyu MG, Powell SM, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. Hypermethylation of the *hMLH1* gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 1090-1095 [PMID: 10070967]
 - 11 Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkänen L, Mecklin JP, Järvinen H, Powell SM, Jen J, Hamilton SR. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993; 260: 812-816 [PMID: 8484121 DOI: 10.1126/science.8484121]
 - 12 Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 919-932 [PMID: 12621137 DOI: 10.1056/NEJMra012242]
 - 13 Solomon CH, Pho LN, Burt RW. Current status of genetic testing for colorectal cancer susceptibility. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16: 161-171; discussion 176, 179-180 [PMID: 11866134]
 - 14 夏岷, 刘希双, 杨堃, 隋爱华. 错配修复基因*hMLH1*和*hMSH2*在胃癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3446-3450
 - 15 Ushijima T, Sasako M. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 121-125 [PMID: 14998488 DOI: 10.1016/S1535-6108(04)00033-9]
 - 16 Li M, Liu L, Wang Z, Wang L, Liu Z, Xu G, Lu S. Overexpression of *hMSH2* and *hMLH1* protein in certain gastric cancers and their surrounding mucosae. *Oncol Rep* 2008; 19: 401-406 [PMID: 18202787]
 - 17 Srivastava T, Chattopadhyay P, Mahapatra AK, Sarkar C, Sinha S. Increased *hMSH2* protein expression in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2004; 66: 51-57 [PMID: 15015769 DOI: 10.1023/B:NEON.0000013482.99032.b0]
 - 18 Aubry MC, Halling KC, Myers JL, Tazelaar HD, Yang P, Thibodeau SN. DNA mismatch repair genes *hMLH1*, *hMSH2*, and *hMSH6* are not inactivated in bronchioloalveolar carcinomas of the lung. *Cancer* 2001; 92: 2898-2901 [PMID: 11753964 DOI: 10.1002/1097-0142(20011201)92:11<2898::AID-CNCR10104>3.0.CO;2-Q]
 - 19 Leach FS, Hsieh JT, Molberg K, Saboorian MH, McConnell JD, Sagalowsky AI. Expression of the human mismatch repair gene *hMSH2*: a potential marker for urothelial malignancy. *Cancer* 2000; 88: 2333-2341 [PMID: 10820356 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(20000515)88:10<2333::AID-CNCR18>3.0.CO;2-Y]
 - 20 Mir MR, Shabir N, Wani KA, Shaff S, Hussain I, Banday MA, Chikan NA, Bilal S, Aeja S. Association between p16, *hMLH1* and E-cadherin promoter hypermethylation and intake of local hot salted tea and sun-dried foods in Kashmiris with gastric tumors. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 181-186 [PMID: 22502664 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.1.181]
 - 21 Wani M, Afroz D, Makhdoom M, Hamid I, Wani B, Bhat G, Wani R, Wani K. Promoter methylation status of DNA repair gene (*hMLH1*) in gastric carcinoma patients of the Kashmir valley. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4177-4181 [PMID: 23098428 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.8.4177]
 - 22 Kim HG, Lee S, Kim DY, Ryu SY, Joo JK, Kim JC, Lee KH, Lee JH. Aberrant methylation of DNA mismatch repair genes in elderly patients with sporadic gastric carcinoma: A comparison with younger patients. *J Surg Oncol* 2010; 101: 28-35 [PMID: 19894224 DOI: 10.1002/jso.21432]
 - 23 Nakajima T, Akiyama Y, Shiraishi J, Arai T, Yanagisawa Y, Ara M, Fukuda Y, Sawabe M, Saitoh K, Kamiyama R, Hirokawa K, Yuasa Y. Age-related hypermethylation of the *hMLH1* promoter in gastric cancers. *Int J Cancer* 2001; 94: 208-211 [PMID: 11668499]
 - 24 Arai T, Takubo K. Clinicopathological and molecular characteristics of gastric and colorectal carcinomas in the elderly. *Pathol Int* 2007; 57: 303-314 [PMID: 17539960 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2007.02101.x]
 - 25 Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16: 168-174 [PMID: 10729832 DOI: 10.1016/S0168-9525(99)01971-X]
 - 26 Arai T, Kasahara I, Sawabe M, Honma N, Aida J, Tabubo K. Role of methylation of the *hMLH1* gene promoter in the development of gastric and colorectal carcinoma in the elderly. *Geriatr Gerontol Int* 2010; 10 Suppl 1: S207-S212 [PMID: 20590835 DOI: 10.1111/j.1447-0594.2010.00590.x]
 - 27 Konturek JW. Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54 Suppl 3: 23-41 [PMID: 15075463]
 - 28 Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, Kwiecień S, Pajdo R, Drozdowicz D, Stachura J, Karczewska E, Hahn EG. Functional and morphological aspects of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer in Mongolian gerbils. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 745-754 [PMID: 12811305 DOI: 10.1097/01.meg.0000059155.68845.9d]
 - 29 Watari J, Tanaka A, Tanabe H, Sato R, Moriichi K, Zaky A, Okamoto K, Maemoto A, Fujiya M, Ashida T, Das KM, Kohgo Y. K-ras mutations and cell kinetics in *Helicobacter pylori* associated gastric intestinal metaplasia: a comparison before and after eradication in patients with chronic gastritis and gastric cancer. *J Clin Pathol* 2007; 60: 921-926 [PMID: 16997920 DOI: 10.1136/jcp.2006.041939]
 - 30 Maekita T, Nakazawa K, Mihara M, Nakajima T, Yanaoka K, Iguchi M, Arii K, Kaneda A, Tsukamoto T, Tatematsu M, Tamura G, Saito D, Sugimura T, Ichinose M, Ushijima T. High levels of aberrant DNA methylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosae and its possible association with gastric cancer risk. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 989-995 [PMID: 16467114 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2096]
 - 31 Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Nakamura M, Yoshioka D, Okubo M, Maruyama N, Kamano T, Ka-

- miya Y, Fujita H, Nakagawa Y, Nagasaka M, Iwata M, Takahama K, Watanabe M, Yamashita H, Hirata I. Increased number of methylated CpG islands correlates with *Helicobacter pylori* infection, histological and serological severity of chronic gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 613-619 [PMID: 19307977 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32830e28b2]
- 32 Katayama Y, Takahashi M, Kuwayama H. *Helicobacter pylori* causes runx3 gene methylation and its loss of expression in gastric epithelial cells, which is mediated by nitric oxide produced by macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388: 496-500 [PMID: 19665002 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.08.003]
- 33 Kim JJ, Tao H, Carloni E, Leung WK, Graham DY, Sepulveda AR. *Helicobacter pylori* impairs DNA mismatch repair in gastric epithelial cells. *Gastroenterology* 2002; 123: 542-553 [PMID: 12145807]
- 34 Kang GH, Lee HJ, Hwang KS, Lee S, Kim JH, Kim JS. Aberrant CpG island hypermethylation of chronic gastritis, in relation to aging, gender, intestinal metaplasia, and chronic inflammation. *Am J Pathol* 2003; 163: 1551-1556 [PMID: 14507661 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63511-0]
- 35 Gedder H, Zur Hausen A, Gabbert HE, Sarbia M. EBV-infection in cardiac and non-cardiac gastric adenocarcinomas is associated with promoter methylation of p16, p14 and APC, but not *hMLH1*. *Anal Cell Pathol (Amst)* 2010; 33: 143-149 [PMID: 20978327 DOI: 10.1007/s13402-011-0028-6]
- 36 Alves MK, Ferrasi AC, Lima VP, Ferreira MV, de Moura Campos Pardini MI, Rabenhorst SH. Inactivation of COX-2, *hMLH1* and CDKN2A gene by promoter methylation in gastric cancer: relationship with histological subtype, tumor location and *Helicobacter pylori* genotype. *Pathobiology* 2011; 78: 266-276 [PMID: 21849808 DOI: 10.1159/000329475]
- 37 Kaneda A, Kaminishi M, Yanagihara K, Sugimura T, Ushijima T. Identification of silencing of nine genes in human gastric cancers. *Cancer Res* 2002; 62: 6645-6650 [PMID: 12438262]
- 38 Endoh M, Tamura G, Honda T, Homma N, Terashima M, Nishizuka S, Motoyama T. RASSF2, a potential tumour suppressor, is silenced by CpG island hypermethylation in gastric cancer. *Br J Cancer* 2005; 93: 1395-1399 [PMID: 16265349 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602854]
- 39 Oue N, Mitani Y, Motoshita J, Matsumura S, Yoshida K, Kuniyasu H, Nakayama H, Yasui W. Accumulation of DNA methylation is associated with tumor stage in gastric cancer. *Cancer* 2006; 106: 1250-1259 [PMID: 16475210 DOI: 10.1002/cncr.21754]
- 40 Watanabe Y, Kim HS, Castoro RJ, Chung W, Estecio MR, Kondo K, Guo Y, Ahmed SS, Toyota M, Itoh F, Suk KT, Cho MY, Shen L, Jelinek J, Issa JP. Sensitive and specific detection of early gastric cancer with DNA methylation analysis of gastric washes. *Gastroenterology* 2009; 136: 2149-2158 [PMID: 19375421 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.085]
- 41 Shi J, Zhang G, Yao D, Liu W, Wang N, Ji M, He N, Shi B, Hou P. Prognostic significance of aberrant gene methylation in gastric cancer. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 116-129 [PMID: 22206050]
- 42 Carneiro F, Oliveira C, Leite M, Seruca R. Molecular targets and biological modifiers in gastric cancer. *Semin Diagn Pathol* 2008; 25: 274-287 [PMID: 19013893 DOI: 10.1053/j.semdp.2008.07.004]
- 43 Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, Offerhaus GJ. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer. *Hum Genet* 2009; 126: 615-628 [PMID: 19657673 DOI: 10.1007/s00439-009-0722-x]
- 44 Huang YQ, Yuan Y, Ge WT, Hu HG, Zhang SZ, Zheng S. Comparative features of colorectal and gastric cancers with microsatellite instability in Chinese patients. *J Zhejiang Univ Sci B* 2010; 11: 647-653 [PMID: 20803768 DOI: 10.1631/jzus.B1000198]
- 45 Wu CW, Chen GD, Jiang KC, Li AF, Chi CW, Lo SS, Chen JY. A genome-wide study of microsatellite instability in advanced gastric carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 92-101 [PMID: 11443614 DOI: 10.1002/1097-0142(20010701)92:]
- 46 Seo HM, Chang YS, Joo SH, Kim YW, Park YK, Hong SW, Lee SH. Clinicopathologic characteristics and outcomes of gastric cancers with the MSI-H phenotype. *J Surg Oncol* 2009; 99: 143-147 [PMID: 19117018 DOI: 10.1002/jso.21220]
- 47 Beghelli S, de Manzoni G, Barbi S, Tomezzoli A, Roviello F, Di Gregorio C, Vindigni C, Bortesi L, Parisi A, Saragoni L, Scarpa A, Moore PS. Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers. *Surgery* 2006; 139: 347-356 [PMID: 16546499 DOI: 10.1016/j.surg.2005.08.021]
- 48 Lee HS, Choi SI, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kang GH, Kim YI, Lee BL, Kim WH. Distinct clinical features and outcomes of gastric cancers with microsatellite instability. *Mod Pathol* 2002; 15: 632-640 [PMID: 12065777 DOI: 10.1038/modpathol.3880578]
- 49 Wolff EM, Byun HM, Han HF, Sharma S, Nichols PW, Siegmund KD, Yang AS, Jones PA, Liang G. Hypomethylation of a LINE-1 promoter activates an alternate transcript of the MET oncogene in bladders with cancer. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000917 [PMID: 20421991 DOI: 10.1371/journal.pgen.1000917]
- 50 Cheng JC, Yoo CB, Weisenberger DJ, Chuang J, Wozniak C, Liang G, Marquez VE, Greer S, Orntoft TF, Thykjaer T, Jones PA. Preferential response of cancer cells to zebularine. *Cancer Cell* 2004; 6: 151-158 [PMID: 15324698 DOI: 10.1016/j.ccr.2004.06.023]
- 51 Stresemann C, Brueckner B, Musch T, Stopper H, Lyko F. Functional diversity of DNA methyltransferase inhibitors in human cancer cell lines. *Cancer Res* 2006; 66: 2794-2800 [PMID: 16510601 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2821]
- 52 Cheng JC, Weisenberger DJ, Gonzales FA, Liang G, Xu GL, Hu YG, Marquez VE, Jones PA. Continuous zebularine treatment effectively sustains demethylation in human bladder cancer cells. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 1270-1278 [PMID: 14729971 DOI: 10.1128/MCB.24.3.1270-1278.2004]
- 53 Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, Braconi C, Veronese A, Lovat F, Adair B, Vannini I, Fanini F, Bottoni A, Costinean S, Sandhu SK, Nuovo GJ, Alder H, Gafa R, Calore F, Ferracin M, Lanza G, Volinia S, Negrini M, McIlhatton MA, Amadori D, Fishel R, Croce CM. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 6982-6987 [PMID: 20351277 DOI: 10.1073/pnas.1002472107]
- 54 Falchetti M, Saieva C, Lupi R, Masala G, Rizzolo P, Zanna I, Ceccarelli K, Sera F, Mariani-Costantini R, Nesi G, Palli D, Ottini L. Gastric cancer with high-

同行评价

本文对 *hMLH1* 甲基化、MSI 在胃癌中的表达、与胃癌病理类型的关系、预后及 *hMLH1* 甲基化的治疗研究现状进行了全面的综述, 有较好的参考价值。

- level microsatellite instability: target gene mutations, clinicopathologic features, and long-term survival. *Hum Pathol* 2008; 39: 925-932 [PMID: 18440592 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.10.024]
- 55 Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, Hamilton SR, Laurent-

Puig P, Gryfe R, Shepherd LE, Tu D, Redston M, Gallinger S. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 247-257 [PMID: 12867608 DOI: 10.1056/NEJMoa022289]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

胰岛素/胰岛素样生长因子与肝再生的关系

褚延魁, 王胜智, 刘育蕾, 康志龙

褚延魁, 王胜智, 刘育蕾, 康志龙, 中国人民解放军第302医院普通外科 北京市100039

褚延魁, 副主任医师, 主要从事肝胆外科与腹腔镜微创外科的研究。

作者贡献分布: 褚延魁、王胜智、刘育蕾及康志龙对此文所做贡献均等; 设计方案由褚延魁提供; 文献检索由王胜智与刘育蕾共同完成; 此论文写作由褚延魁与康志龙完成。

通讯作者: 康志龙, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院普通外科, bjjoan008@126.com

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Relationship between insulin/insulin-like growth factor and liver regeneration

Yan-Kui Chu, Sheng-Zhi Wang, Yu-Lei Liu, Zhi-Long Kang

Yan-Kui Chu, Sheng-Zhi Wang, Yu-Lei Liu, Zhi-Long Kang, Department of General Surgery, 302nd Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Beijing 100039, China
Correspondence to: Zhi-Long Kang, Department of General Surgery, 302nd Hospital of the Chinese People's Liberation Army, 100 Xisihuan Middle Road, Beijing 100039, China. bjjoan008@126.com

Received: 2013-08-23 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

Hepatocellular carcinoma is one of the most common cancers, and the main treatments include intervention, radiofrequency ablation, surgical resection and liver transplantation. Metastasis and recurrence contribute greatly to the high mortality rate of hepatocellular carcinoma. Currently, many efforts have been taken to find the ways to promote liver regeneration after liver resection. This article will discuss the relationship between liver regeneration and insulin/insulin-like growth factor.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Insulin; Insulin-like growth factor; Liver regeneration

Chu YK, Wang SZ, Liu YL, Kang ZL. Relationship between insulin/insulin-like growth factor and liver regeneration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3961-3964 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3961.asp> DOI:

<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3961>

摘要

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma)是目前最常见的癌症之一, 其主要治疗方法包括介入、射频消融、手术切除、肝移植等, 但是复发转移快, 病死率高是个不容忽视的问题。因此寻找肝切除术后剩余肝脏的再生方法逐渐引起了大家的广泛关注。本文将就肝再生与胰岛素及胰岛素生长因子之间的关系进行阐述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰岛素; 胰岛素样生长因子; 肝再生

核心提示: 胰岛素家族的研究不仅是肝再生研究的新方向, 也是肝癌机制深入研究的一个切入点。

褚延魁, 王胜智, 刘育蕾, 康志龙. 胰岛素/胰岛素样生长因子与肝再生的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(35): 3961-3964
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3961.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3961>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma)在我国发病率极高, 目前治疗肝癌的方法很多, 虽然手术切除部分肝脏后, 机体释放的促进肝脏再生的因子, 能改善患者肝功能, 提高其生活质量, 但是大量肝癌术后患者由于肝脏损伤严重, 肝细胞坏死能力远远超过肝再生的能力。

1 肝再生的意义

众所周知肝移植是治疗肝脏衰竭最终解决途径^[1,2], 但是在我国由于肝源短缺, 受体供体配型、找到适合受体的肝脏供体需要等待的时间长, 许多患者往往没有等到供体肝脏时, 病情就已经恶化, 导致死亡。另外, 移植手术后长期应用免疫抑制剂带来的不良反应使其应用也受到了限制。

于是肝干细胞的研究逐渐成为了热点, 肝干细胞是具有无限增殖能力和多向分化潜能的细

■背景资料

原发性肝癌是目前最常见的癌症之一, 其复发转移快, 病死率高已成为不容忽视的问题, 因此寻找肝切除术后剩余肝脏的再生方法逐渐引起了大家的广泛关注。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研发前沿

肝再生是一个复杂的过程,其发生机制至今也未阐明,肝再生的研究对于探讨肝癌的发病机制有重要意义。

胞^[3,4]。体内有许多细胞都符合肝干细胞的特征,如肝脏胚胎发育过程中的胎肝干细胞及成肝细胞、成年肝内存在的兼性肝干细胞及其子代细胞卵圆细胞,表达CD133的肝星状细胞等,此外,骨髓间充质干细胞、胰腺干细胞等可能也参与了肝再生^[5-7]。肝干细胞目前在移植领域、遗传性及慢性肝病治疗、肝肿瘤预防和肝病药物筛选等方面应用广泛^[8-10]。

目前寻求除了肝脏器官及肝干细胞移植以外的促进肝再生的方法逐渐成为了研究的热点,近年来肝再生的研究已经有了十分重大的成果,但其分子机制尚未达成共识^[11]。肝脏损伤或部分肝叶切除后,其他肝细胞可快速从G₀期进入S期,实现肝细胞的再生,并且这种肝细胞完成2-3次细胞分裂,刺激机体分泌一系列促进肝再生的细胞因子,从而激发一系列的生物效应,最终达到肝再生的目的^[12]。

因此,肝再生的研究意义十分重大,这将会大大提高肝癌患者肝切除术后的生存质量,延长患者寿命,除此之外,肝再生的研究对于探讨肝癌的发病机制有重要意义。

2 肝再生与胰岛素及胰岛素生长因子

肝脏的再生的启动及快速增值阶段主要是通过成熟肝细胞的有丝分裂或当肝组织巨大损伤后激活肝干/祖细胞来实现^[13]。近年来的研究表明,除了上皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、胰岛素、肾上腺素等因素外,肝特异性的生长因子(augmenter of liver regeneration, ALR)和抑素也参与了肝组织生长和再生的调节^[14]。1994年, Hagiya等从乳鼠肝脏中分离出一种促进肝脏再生的物质,并成功克隆了他的cDNA,即肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)^[15-17]。Takahashi等^[18]最近的研究表明:血小板对于抑制肝脏纤维化及肝损害有着很重要的作用,主要是通过3种途径来实现,直接作用于肝细胞、与肝窦状内皮细胞的协同作用及与Kupffer细胞的系统效应。因此,输注血小板及促血小板生成素将是除了肝脏移植外治疗肝脏疾病的新方向。

有研究表明,在人肝癌组织中,胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的mRNAs的表达较正常组织低^[19-21]。在动物模型和人肝癌中,胰岛素生长因子-2(insulin-like growth factor-2, IGF-2)已经有报道是高表达的^[22,23]。Zhou等^[24]用了多种肝癌细胞系进行检

测,包括(PLC、HCC细胞系)全部测得IGF-1R mRNA的表达低于正常对照,而IGF-2的表达却高于对照组。且在正常人、肝硬化患者及肝癌患者3组中,肝癌患者肝组织的IGFBP-3 mRNA水平显著降低。肝癌患者血清中IGFBP-2的水平显著增加,该研究小组首次采用了抗体芯片对25对肝癌与正常组织进行高通量检测,结果提示IGF-2R和IGFBP-2蛋白在肝癌组织中提高^[25,26]。这也提示了IGF家族蛋白也将成为今后肝脏疾病研究的热点。

部分肝切除术后,迅速进入了增殖阶段,当其增殖乏力时即进入肝再生终止阶段。在肝再生末期,肝重相对精确地被调整以与原肝重相适应;同时,通过TUNEL标记分析发现在小鼠肝再生的末期会出现一小部分肝细胞凋亡^[27,28]。

有报道发现肝再生终止阶段与转换生长因子-1(transforming growth factor, TGF-1)、激活素A(activin A)、整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)、磷脂酰肌醇3(glypican-3)、白介素1(interleukin-1, IL-1)等因子有关。可能是通过再生的肝细胞对TGF-1的分子进行分解,来发挥其抑制肝细胞增殖的作用^[29-32]。

研究人员通过*Nrf2*基因敲除小鼠的体外和体内的实验发现,部分肝脏切除后,胰岛素/胰岛生长因子氧化应激^[33-35],从而致使p38激酶和AKT激酶通路下游的靶点因子激活受损,进一步抑制了肝脏再生^[36-38]。由此说明,胰岛素/胰岛生长因子系统对于肝脏的再生的终止也发挥了非常重要的作用^[39]。

IGFs的蛋白质序列与胰岛素有极高的相似性,IGFs家族主要由两种低分子多肽(IGF-I、IGF-II)、两类特异性表面受体(IGF1R和IGF2R)组成^[40-44]。除此以外,还包含高亲和性IGF结合蛋白(IGFBP-1至IGFBP-6)以及相关IGFBP降解酶。IGF是一类细胞增殖调控因子,在细胞的增殖、分化及个体的生长发育过程中具有重要的促进作用^[45]。

IGF-I通过与IGF-I受体结合发挥生物学效应,然而IGF-II却具有双重结合力,不仅能与IGF-I受体结合,还能与IGF-II受体结合而起作用^[46]。IGF-I、IGF-II及其受体在肝细胞癌变过程中发挥重要作用,肝癌的发生发展与IGF-I、IGF-I R、IGF-II、IGF-II R的协同作用有密切相关性,IGF-I受体及IGF-II在HCC进展过程中过量表达,IGF-I受体通过与IGF-II结合导致自身酪氨酸激酶磷酸化,从而激活下游信号通路,

使肝细胞恶性分化能力增强^[47,48]。

IGF-2在肝癌的发生过程中具有极为重要的意义, 他不仅通过内分泌参与机体代谢过程中, 而且还通过自分泌/旁分泌的途径促进了肝癌细胞的增殖和分化^[49,50], 由于HCC中肿瘤细胞生长迅速导致局部缺氧, 大大增加人肝癌血管内皮因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA和蛋白水平^[51], VEGF通过与窦状内皮细胞表面表达的受体Flt-1、Flk-1的结合, 在体内和体外均可促进内皮细胞的增殖分化, 从而进一步诱导IGF-2基因的表达。

3 结论

肝再生的过程是一个复杂的过程, 主要包括再生启动、快速增值及再生终止3个阶段, 其机制至今也尚未阐明, 许多的细胞因子都参与了这一过程, 除了胰岛素/胰岛素生长因子家族外, 肝再生增强因子, 上皮生长因子、肾上腺素、转化因子等也参与了肝再生的调节, 本文不再赘述。我们认为, 胰岛素生长因子家族的研究不仅是肝再生研究的新方向, 也是肝癌机制深入研究的一个切入点。

4 参考文献

- 1 Dhawan A, Strom SC, Sokal E, Fox IJ. Human hepatocyte transplantation. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 525-534 [PMID: 20645072 DOI: 10.1007/978-1-60761-688-7_29]
- 2 Sharma R, Greenhough S, Medine CN, Hay DC. Three-dimensional culture of human embryonic stem cell derived hepatic endoderm and its role in bioartificial liver construction. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 236147 [PMID: 20169088 DOI: 10.1155/2010/236147]
- 3 路国勇, 寸向农, 杨开明. 肝干细胞微环境在肝再生中的介导作用. *四川解剖学杂志* 2012; 20: 58-60
- 4 Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004; 39: 1477-1487 [PMID: 15185286 DOI: 10.1002/hep.20214]
- 5 Shen CN, Tosh D. Transdifferentiation of pancreatic cells to hepatocytes. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 273-280 [PMID: 20645057 DOI: 10.1007/978-1-60761-688-7_14]
- 6 Kordes C, Sawitza I, Müller-Marbach A, Ale-Agha N, Keitel V, Klonowski-Stumpe H, Häussinger D. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352: 410-417 [PMID: 17118341 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.11.029]
- 7 石毓君. 肝再生研究中的热点问题. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3611-3615
- 8 Suzuki A, Zheng YW, Kondo R, et al. Flow-cytometric separation and enrichment of hepatic progenitor cells in the developing mouse liver. *Hepatology* 2001; 32: 1230-1239 [PMID: 11093729 DOI: 10.1053/jhep.2000.20349]
- 9 于伟燕, 赵彩彦. 肝干细胞移植的基础研究进展. *实用肝脏病杂志* 2012; 15: 371-373
- 10 孙航, 余慧峰, 吴传新, 管小琴, 刘杞. 肝再生增强因子在肝癌细胞中的表达及意义. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 205-208
- 11 Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New concepts in liver regeneration. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 203-212 [PMID: 21199532 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06539.x]
- 12 魏春山, 唐海鸿, 童光东, 陈孝银. 不同来源肝干细胞的定向分化潜能. *中国组织工程研究* 2012; 16: 8530-8534
- 13 Nissim O, Melis M, Diaz G, Kleiner DE, Tice A, Fantola G, Zamboni F, Mishra L, Farci P. Liver regeneration signature in hepatitis B virus (HBV)-associated acute liver failure identified by gene expression profiling. *PLoS One* 2012; 7: e49611 [PMID: 23185381 DOI: 10.1371/journal.pone.0049611.]
- 14 Hagiya M, Francavilla A, Polimeno L, Ihara I, Sakai H, Seki T, Shimonishi M, Porter KA, Starzl TE. Cloning and sequence analysis of the rat augmenter of liver regeneration (ALR) gene: expression of biologically active recombinant ALR and demonstration of tissue distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8142-8146 [PMID: 8058770 DOI: 10.1073/pnas.91.17.8142]
- 15 LaBrecque DR, Pesch LA. Preparation and partial characterization of hepatic regenerative stimulator substance (SS) from rat liver. *J Physiol* 1975; 248: 273-284 [PMID: 1151784]
- 16 Giorda R, Hagiya M, Seki T, Shimonishi M, Sakai H, Michaelson J, Francavilla A, Starzl TE, Trucco M. Analysis of the structure and expression of the augmenter of liver regeneration (ALR) gene. *Mol Med* 1996; 2: 97-108 [PMID: 8900538]
- 17 Francavilla A, Hagiya M, Porter KA, Polimeno L, Ihara I, Starzl TE. Augmenter of liver regeneration: its place in the universe of hepatic growth factors. *Hepatology* 1994; 20: 747-757 [PMID: 8076931 DOI: 10.1002/hep.1840200328]
- 18 Takahashi K, Murata S, Ohkohchi N. Novel therapy for liver regeneration by increasing the number of platelets. *Surg Today* 2013; 43: 1081-1087 [PMID: 23180116 DOI: 10.1007/s00595-012-0418-z]
- 19 严晓娣, 董志珍, 姚登福. 胰岛素样生长因子-I受体异常激活与肝癌靶向治疗. *临床肝胆病杂志* 2013; 6: 473-476
- 20 Fuchs BC, Fujii T, Dorfman JD, Goodwin JM, Zhu AX, Lanuti M, Tanabe KK. Epithelial-to-mesenchymal transition and integrin-linked kinase mediate sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibition in human hepatoma cells. *Cancer Res* 2008; 68: 2391-2399 [PMID: 18381447 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2460]
- 21 Stuver SO, Kuper H, Tzonou A, Lagiou P, Spanos E, Hsieh CC, Mantzoros C, Trichopoulos D. Insulin-like growth factor 1 in hepatocellular carcinoma and metastatic liver cancer in men. *Int J Cancer* 2000; 87: 118-121 [PMID: 10861461]
- 22 董志珍, 姚敏, 钱静, 严晓娣, 陈洁, 严美娟, 姚宁华, 姚登福. 肝癌组织中胰岛素样生长因子-II异常表达及mRNA转录干预对HepG2细胞凋亡的影响. *中华医学杂志* 2013; 93: 892-896
- 23 Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1472-1489 [PMID: 10995803 DOI: 10.1093/jnci/92.18.1472]
- 24 Zhou Q, Mao YQ, Jiang WD, Chen YR, Huang RY, Zhou XB, Wang YF, Shi Z, Wang ZS, Huang RP. Development of IGF signaling antibody arrays for the identification of hepatocellular carcinoma biomarkers. *PLoS One* 2012; 7: e46851 [PMID: 23071652 DOI: 10.1371/journal.pone.0046851]

■相关报道

相关报道提示患者血清中IGF-1R及IGF-2的表达与原发肝癌的发生密切相关。

■同行评价

本文结合临床,文献合理,结论客观可信,具有一定指导意义。

- 25 Weng CJ, Hsieh YH, Tsai CM, Chu YH, Ueng KC, Liu YF, Yeh YH, Su SC, Chen YC, Chen MK, Yang SF. Relationship of insulin-like growth factors system gene polymorphisms with the susceptibility and pathological development of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1808-1815 [PMID: 20119675 DOI: 10.1245/s10434-009-0904-8.]
- 26 Price JA, Kovach SJ, Johnson T, Koniaris LG, Cahill PA, Sitzmann JV, McKillop IH. Insulin-like growth factor I is a comitogen for hepatocyte growth factor in a rat model of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 36: 1089-1097 [PMID: 12395318 DOI: 10.1053/jhep.2002.36158]
- 27 Apte U, Gkretsi V, Bowen WC, Mars WM, Luo JH, Donthamsetty S, Orr A, Monga SP, Wu C, Michalopoulos GK. Enhanced liver regeneration following changes induced by hepatocyte-specific genetic ablation of integrin-linked kinase. *Hepatology* 2009; 50: 844-851 [PMID: 19575460 DOI: 10.1002/hep.23059]
- 28 Sakamoto T, Liu Z, Murase N, Ezure T, Yokomuro S, Poli V, Demetris AJ. Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy. *Hepatology* 1999; 29: 403-411 [PMID: 9918916 DOI: 10.1002/hep.510290244]
- 29 Michalopoulos GK, DeFrances M. Liver regeneration. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2005; 93: 101-134 [PMID: 15791946 DOI: 10.1007/b99968]
- 30 Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010; 176: 2-13 [PMID: 20019184 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090675]
- 31 LaMarre J, Hayes MA, Wollenberg GK, Hussaini I, Hall SW, Gonias SL. An alpha 2-macroglobulin receptor-dependent mechanism for the plasma clearance of transforming growth factor-beta 1 in mice. *J Clin Invest* 1991; 87: 39-44 [PMID: 1702100 DOI: 10.1172/JCI114998]
- 32 安永, 别平. 细胞因子与肝再生. 世界华人消化杂志 2001; 9: 575-578
- 33 Zhou BP, Liao Y, Xia W, Zou Y, Spohn B, Hung MC. HER-2/neu induces p53 ubiquitination via Akt-mediated MDM2 phosphorylation. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 973-982 [PMID: 11715018 DOI: 10.1038/ncb1101-973]
- 34 Bader AG, Kang S, Zhao L, Vogt PK. Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 921-929 [PMID: 16341083 DOI: 10.1038/nrc1753]
- 35 Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signaling controls tumour cell growth. *Nature* 2006; 441: 424-430 [PMID: 16724053 DOI: 10.1038/nature04869]
- 36 Beyers TA, Xu W, Teupser D, auf dem Keller U, Bugnon P, Hildt E, Thierry J, Kan YW, Werner S. Impaired liver regeneration in Nrf2 knockout mice: role of ROS-mediated insulin/IGF-1 resistance. *EMBO J* 2008; 27: 212-223 [PMID: 18059474 DOI: 10.1038/sj.emboj.7601950]
- 37 Desbois-Mouthon C, Baron A, Blivet-Van Eggelpoël MJ, Fartoux L, Venot C, Bladt F, Housset C, Rosmorduc O. Insulin-like growth factor-1 receptor inhibition induces a resistance mechanism via the epidermal growth factor receptor/HER3/AKT signaling pathway: rational basis for cotargeting insulin-like growth factor-1 receptor and epidermal growth factor receptor in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5445-5456 [PMID: 19706799 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2980]
- 38 Cohen BD, Baker DA, Soderstrom C, Tkalecivic G, Rossi AM, Miller PE, Tengowski MW, Wang F, Gualberto A, Beebe JS, Moyer JD. Combination therapy enhances the inhibition of tumor growth with the fully human anti-type 1 insulin-like growth factor receptor monoclonal antibody CP-751, 871. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2063-2073 [PMID: 15756033 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1070]
- 39 陆克, 薛斌. 肝再生终止阶段的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 837-845
- 40 Nielsen FC, Christiansen J. Posttranscriptional regulation of insulin-like growth factor II mRNA. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1995; 220: 37-46 [PMID: 7652480]
- 41 Honda S, Arai Y, Haruta M, Sasaki F, Ohira M, Yamaoka H, Horie H, Nakagawara A, Hiyama E, Todo S, Kaneko Y. Loss of imprinting of IGF2 correlates with hypermethylation of the H19 differentially methylated region in hepatoblastoma. *Br J Cancer* 2008; 99: 1891-1899 [PMID: 19034281 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604754]
- 42 Baserga R, Peruzzi F, Reiss K. The IGF-1 receptor in cancer biology. *Int J Cancer* 2003; 107: 873-877 [PMID: 14601044 DOI: 10.1002/ijc.11487]
- 43 Brown J, Jones EY, Forbes BE. Interactions of IGF-II with the IGF2R/cation-independent mannose-6-phosphate receptor mechanism and biological outcomes. *Vitam Horm* 2009; 80: 699-719 [PMID: 19251056 DOI: 10.1016/S0083-6729(08)00625-0]
- 44 Clemmons DR. Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997; 8: 45-62 [PMID: 9174662 DOI: 10.1016/S1359-6101(96)00053-6]
- 45 Maki RG. Small is beautiful: insulin-like growth factors and their role in growth, development, and cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4985-4995 [PMID: 20975071 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.5040]
- 46 O'Dell SD, Day IN. Insulin-like growth factor II (IGF-II). *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 767-771 [PMID: 9722981 DOI: 10.1016/S1357-2725(98)00048-X]
- 47 孙芳, 付汉江, 铁轶, 郑晓飞. 类胰岛素生长因子与肝癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2473-2479
- 48 Kawate S, Takenoshita S, Ohwada S, Mogi A, Fukusato T, Makita F, Kuwano H, Morishita Y. Mutation analysis of transforming growth factor beta type II receptor, Smad2, and Smad4 in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 1999; 14: 127-131 [PMID: 9863018]
- 49 Ryan PD, Goss PE. The emerging role of the insulin-like growth factor pathway as a therapeutic target in cancer. *Oncologist* 2008; 13: 16-24 [PMID: 18245009 DOI: 10.1634/theoncologist.2007-0199.]
- 50 Prakash J, Beljaars L, Harapanahalli AK, Zeinstra-Smith M, de Jager-Krikken A, Hessing M, Steen H, Poelstra K. Tumor-targeted intracellular delivery of anticancer drugs through the mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Int J Cancer* 2010; 126: 1966-1981 [PMID: 19795464 DOI: 10.1002/ijc.24914]
- 51 王梦龙, 李朝龙. 胰岛素生长因子-2与肝癌的关系. 现代临床普通外科 1998; 3: 242-244

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Cajal间质细胞与肠易激综合征关系的研究进展

李泽培, 邱野, 彭燕

李泽培, 邱野, 彭燕, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

李泽培, 硕士研究生, 主要从事胃肠动力方面的研究

作者贡献分布: 本综述由李泽培完成; 文献资料由邱野收集; 彭燕审核。

通讯作者: 彭燕, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科。1806857826@qq.com
电话: 0830-3165331

收稿日期: 2013-08-15 修回日期: 2013-10-13

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Relationship between interstitial cells of Cajal and irritable bowel syndrome

Ze-Pei Li, Ye Qiu, Yan Peng

Ze-Pei Li, Ye Qiu, Yan Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yan Peng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1806857826@qq.com

Received: 2013-08-15 Revised: 2013-10-13

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

Interstitial cells of Cajal are the pacemaker of gastrointestinal tract, which can generate electrical signals, conduct slow waves and regulate neurotransmitters. Irritable bowel syndrome (IBS) is a common gastrointestinal disease whose pathogenesis is very complicated, involving gastrointestinal motility disorders, visceral hypersensitivity, infection and abnormal secretion of gastrointestinal hormones. In recent years, it has been found that there are associations between interstitial cells of Cajal and gastrointestinal motility disorders, visceral hypersensitivity and abnormal secretion of gastrointestinal hormones. In this paper, we will review the recent progress in understanding the relationship between interstitial cells of Cajal and IBS.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Interstitial cells of Cajal; Irritable bowel syndrome; Gastrointestinal motility; Visceral hyper-

sensitivity; Gastrointestinal hormone

Li ZP, Qiu Y, Peng Y. Relationship between interstitial cells of Cajal and irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3965-3970 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3965.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3965>

摘要

Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是胃肠慢波的起搏细胞,具有产生自发电信号、传导慢波电位、调节神经递质等功能,是调节胃肠动力的重要环节。肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的一种消化系统疾病,其发病机制十分复杂,目前主要认为与胃肠运动异常、内脏高敏感、感染、胃肠激素分泌异常等多种因素有关。近年来越来越多的研究表明,IBS存在ICC的形态和数量的异常,ICC与胃肠动力异常、内脏高敏感、感染后IBS以及胃肠激素分泌异常等的发生有一定联系,ICC可能参与IBS的发病过程,本文就二者的关系作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Cajal间质细胞; 肠易激综合征; 胃肠动力; 内脏高敏感; 胃肠激素

核心提示: Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是胃肠慢波的起搏细胞,具有产生自发电信号、传导慢波电位、调节神经递质等功能,是调节胃肠动力的重要环节。近年来研究认为肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)存在ICC的形态和数量的异常,ICC与胃肠动力异常、内脏高敏感、感染后IBS以及胃肠激素分泌异常等的发生有一定联系,本文综述二者的关系。

李泽培, 邱野, 彭燕. Cajal间质细胞与肠易激综合征关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(35): 3965-3970 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3965.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3965>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是

■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的一种消化系统疾病,其病因和发病机制目前仍不十分明确。近年来研究认为Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)与IBS的发病有一定联系,ICC在IBS发病中的作用逐渐受到重视。

■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

■ 研发前沿

ICC与IBS发病的关系,探索IBS的发病机制,进而提高IBS的诊疗效果。

一种以腹痛、腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性胃肠病,其发病率较高,且病因和发病机制尚不十分清楚。目前认为IBS的发病主要与胃肠运动异常、内脏高敏感、感染、胃肠激素分泌异常等多种因素有关。Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是胃肠慢波的起搏细胞,具有产生自发电信号、传导慢波电位、调节神经递质等功能,是调节胃肠动力的重要环节。近年来越来越多的研究发现,IBS存在ICC的形态和数量的异常^[1-3],且ICC与胃肠动力异常、内脏高敏感、感染后IBS的发病以及胃肠激素分泌异常等有一定联系,ICC可能参与IBS的发病过程。深入研究ICC与IBS的关系可能为IBS的病理研究及治疗提供新的认识。

1 ICC

1893年,西班牙神经解剖学家Cajal利用甲基蓝及嗜银染色法发现消化系存在一种特殊间质细胞,主要分布在消化系统自主神经末梢与平滑肌细胞之间,称为ICC。其后学者进行大量研究证实ICC是胃肠道的起搏细胞,具有产生自发电信号、传导慢波电位、调节神经递质等功能。ICC在维持正常胃肠动力方面发挥着重要作用,多种胃肠动力障碍性疾病也存在ICC结构与数量的异常。ICC基因表达产物c-kit的发现对ICC的研究具有重要意义。c-kit是原癌基因,编码kit受体(酪氨酸激酶受体),几乎所有的ICC都表达c-kit受体^[4]。在胃肠道中仅有ICC和肥大细胞表达c-kit,ICC用甲苯胺蓝染色后不呈现异染性,而肥大细胞被染色后呈红紫色,借此可区别二者。c-kit受体的标志物及c-kit mRNA已成为研究ICC的有效工具,特别是c-kit免疫组织化学染色技术的运用加深了人们对ICC的认识。最近研究发现Anol(anoctamin1)也可用于ICC的标记,Anol在消化系统ICC所有亚型上均有表达,且其特异性较高^[5]。干细胞生长因子(stem cell factor, SCF)是c-kit受体的自然配体,近年来研究发现c-kit/SCF途径对ICC的发生、发育及表型的维持具有重要作用。SCF与其受体c-kit结合可将细胞外信号转到细胞内部,引发某些基因的特异性表达,从而精确地调控ICC的分化与增殖。

1.1 ICC的分类与分布 根据细胞形态、分布位置及与神经丛、平滑肌的空间关系可将ICC分为如下种类^[6]:(1)肌间ICC(myenteric ICC, IC-MY),分别位于胃体、胃窦、小肠、结肠的环形肌与纵行肌之间的间隙中;(2)黏膜下ICC(submucosal

ICC, IC-SM),沿着结肠环形肌束表面的黏膜下层分布;(3)深肌层ICC(deep muscular ICC, IC-DMP),多分布于小肠,位于环肌内薄层与外厚层之间;(4)肌内ICC(intramuscular ICC, IC-IM),分别位于食管、胃底、胃体、结肠的肌层内。前两者主要参与胃肠起搏,后两者主要参与肠神经信号的传导^[7]。

ICC广泛分布于胃肠道各肌层,如食管下括约肌^[8]、胃底、胃体及胃窦^[9,10]、小肠^[11]、结肠^[12]、胰腺^[13]、胆囊^[14]。此外,ICC在胃肠外亦有分布,如上输尿管^[15]、尿道^[16]、子宫肌层^[17]、门静脉^[18]、肠系膜动脉^[19]、心肌细胞^[20]、输卵管及胎盘^[21]等。

1.2 功能 ICC具有产生慢波,调节胃肠平滑肌收缩,传导肠道活动的电信号,调节神经递质等功能。

1.2.1 胃肠起搏:近年来的研究证明,ICC产生慢波,是胃肠道的起搏细胞。慢波决定着平滑肌细胞的收缩节律,调控胃肠道运动发生的时间、地点、频率和方向。ICC的发育及功能维持需要c-kit的表达。自发性c-kit突变W/W^v小鼠小肠ICC的发育受损,其小肠不能产生慢波^[22,23]。有关ICC产生慢波的机制目前尚无定论。有学者认为,慢波的产生是由于氯通道的开放使ICC膜电位去极化,但氯通道缺乏特异的阻滞剂,不能被特异性阻断进行研究。最近研究发现Anol蛋白(钙激活氯通道蛋白)参与慢波的产生,为氯通道产生慢波的假说提供了支持^[24]。也有学者认为慢波的产生是由于ICC产生了Ca²⁺调节的、电压依赖的非选择性钙离子电流,依据是研究发现采用钙通道抑制剂后,未对ICC的电活动产生明显影响,细胞外Ca²⁺浓度的变化可以改变ICC的电活动^[25]。

1.2.2 传导慢波电位:ICC是慢波电位的传播者,其中ICC-IM、ICC-DMP是慢波电位传导系统的主要参与者。ICC的长突起与肌纤维平行走行,而从长突起发出的细小突起则与肌纤维及其他ICC相联系,细胞间的连接为缝隙连接,为电信号传递提供了途径。起源于ICC-MY的慢波沿着ICC-IM、ICC-DMP形成的神经样网络传导,最终通过缝隙连接将慢波信号传导至胃肠道平滑肌系统。

1.2.3 介导神经信号传导:ICC是肠神经系统中传递神经递质的中介。ICC与平滑肌及神经间距仅为20 nm左右,远小于神经和平滑肌之间的距离,ICC与神经轴突接触非常紧密,通过突触前后膜的特殊连接,形成神经元与ICC的密切关

系^[26]. ICC细胞膜上有多种神经递质受体, 包括P物质、一氧化氮(NO)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)等, 是胃肠活动电信号传递至平滑肌的介质^[27]. 胃肠道神经元释放递质, 与ICC表面受体结合, ICC通过缝隙连接介导神经信号传递至胃肠道平滑肌细胞, 使之去极化或超极化, 从而产生兴奋或抑制效果.

2 ICC与IBS

研究发现, IBS存在ICC的形态和数量的异常. Jee等^[1]报道感染后IBS模型大鼠小肠细菌过生长与ICC-DMP的减少有关. 刘书中等^[2]报道感染后IBS模型组ICC出现超微结构损伤, 与周围细胞缝隙连接减少. 韩真等^[3]报道IBS模型大鼠小肠、结肠组织的c-kit表达显著增强, 并认为ICC可能在腹泻型IBS发病中有重要意义.

2.1 ICC与IBS胃肠动力异常 肠道运动异常是IBS的常见临床表现, 而肠道运动异常与ICC结构功能的损伤密切相关^[28]. ICC是胃肠慢波的起搏细胞, 是调节胃肠动力的重要环节^[29]. ICC损伤或缺失均有可能导致胃肠动力障碍, 而动力异常是IBS症状产生的病理生理基础之一. 贾后军等^[30]报道IBS中腹痛腹泻等胃肠动力改变可能与ICC的结构与功能损伤相关. 众多研究表明IBS患者存在全胃肠道动力紊乱. 周婷等^[31]报道慢性综合应激使大鼠肠道ICC超微结构发生改变、数量减少, 与周围平滑肌和神经末梢之间的缝隙连接显著减少, 进而认为ICC形态结构改变可能是应激所致功能性胃肠病动物模型胃肠运动异常的重要环节.

2.1.1 ICC与慢波: ICC产生慢波, 是胃肠道的起搏细胞. 其中胃和小肠的慢波由ICC-MP、ICC-IM产生, 而结肠的慢波主要由ICC-SMP产生^[32]. 慢波决定着平滑肌细胞的收缩节律, 调控胃肠道运动发生的时间、地点、频率和方向. 有研究认为IBS患者胃肠道存在异常慢波. Shafic等^[33]报道IBS患者出现类似快速心律失常波形的异常慢波. Wang等^[34]用旋毛虫诱导IBS动物模型, 发现ICC出现电活动异常, 并失去电活动同步性, 出现多个异位起搏点, 造成电失偶联的发生和局部慢波频率紊乱. IBS患者胃肠道的异常慢波可能与ICC的异常有关.

2.1.2 ICC与消化间期移行性复合运动: 消化间期移行性复合运(migrating motor complex, MMC) III期对清除消化间期末消化的残食具有重要意义, 并能防止小肠淤滞, 从而防止肠道细菌过度

生长. 郝筱倩等^[35]报道腹泻型IBS患者的症状与小肠消化间期MMC周期缩短、III相波幅升高、时程延长、传导速度加快有关, 便秘型IBS患者的MMC则与之相反. NO对MMC有一定影响, 内源性NO可使MMC周期缩短, 而抑制NO的合成可使MMC周期延长^[36]. ICC上存在NO受体, 能合成NO, 对氮能神经递质的作用起放大效应^[37]. 推测ICC可通过影响NO的合成参与MMC的调节.

2.1.3 ICC与高幅收缩波: 正常人体结肠收缩时收缩压力>50 mmHg且传播距离超过10 cm时称为高幅收缩波(high amplitude propagating contractions, HAPCs)^[38], 这种收缩可引起痉挛性排便. 近年来研究认为HAPCs与IBS患者腹痛的发生有一定关系. Chey等^[38]报道便秘型IBS患者HAPCs减少, 而腹泻型IBS患者则与之相反. ICC参与HAPCs的产生过程, Plujà等^[39]报道分布在结肠肌间神经丛的ICC-MP参与HAPCs的产生. 因此, ICC可能通过产生HAPCs参与IBS的发病过程.

2.2 ICC与IBS内脏高敏感 内脏高敏感是IBS的重要病理生理指标之一, 是产生疼痛的主要因素. IBS的内脏高敏感表现为对生理性刺激出现的不适感, 对伤害性刺激呈现的强烈反应^[40]. 丁瑞峰等^[41]报道内脏高敏感大鼠结肠ICC细胞数较对照组明显增加, 并认为ICC增多可能是内脏高敏感的发生机制之一. 研究发现, IBS存在着胃肠道黏膜局部炎症反应, 而ICC基因表达产物c-kit的配体-SCF可分泌大量c-kit激酶, 该激酶可导致肥大细胞、单核细胞活化增殖进而引发肥大细胞、单核细胞在肠道大量浸润^[22,42,43]. 同时, ICC的存活与发育需要c-kit/SCF信号途径调控. SCF的过度激活可能在内脏高敏感的发生中起重要作用. 张静瑜等^[44]用旋毛虫感染大鼠复制IBS模型, 当给予IBS大鼠结肠扩张刺激时, 其ICC活化程度、腹直肌肌电变化及支配左半结肠运动的骶髓后连合核放电频率显著增强, 当给予SCF/c-kit特异性阻断剂甲磺酸伊马替尼后, IBS大鼠因扩张刺激所产生的内脏痛反应、c-kit表达及骶髓后连合核放电频率均显著降低, 提示SCF活化在IBS内脏高敏感中起重要作用. 内脏高敏感的发生机制仍不十分清楚, 目前认为肠神经系统及多种神经递质在外周、脊髓及中枢参与内脏高敏感的调控. ICC与神经轴突接触非常紧密, 通过突触前后膜的特殊连接, 形成神经元与ICC的密切关系^[26], ICC具有接受、传递兴奋与抑制性神经递质的作用. ICC细胞膜上

■ 相关报道

近年来研究发现, IBS存在ICC形态和数量的异常. IBS动物模型存在ICC的破坏, ICC与肠神经元、平滑肌细胞之间的联系中断, 功能上ICC出现电活动异常, 失去电活动同步性.

■创新盘点

本文阐述ICC的分布及功能, ICC与IBS发病的关系, ICC与IBS胃肠动力异常、内脏高敏感、胃肠激素分泌异常及感染后IBS的关系。

存在多种受体如毒蕈碱M2、M3受体、神经激肽受体、VIP受体和五羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)受体, 并可观察到ICC对乙酰胆碱、NO、VIP、P物质等神经递质均有反应^[37]。因此, ICC可能通过介导ENS神经信号的传导参与内脏高敏感的形成过程。

2.3 ICC与感染后IBS 临床上部分被肠道病毒、细菌或寄生虫感染者, 在病原体已清除及黏膜炎症消退后, 仍可发生IBS样症状, 对此称为感染后IBS^[45]。研究发现感染后IBS动物模型存在ICC数量及形态异常。Jee等^[1]报道感染后IBS模型大鼠小肠细菌过生长与ICC-DMP的减少有关。刘书中等^[2]报道感染后IBS模型组ICC出现超微结构损伤, 与周围细胞缝隙连接减少。有研究认为炎症可以导致ICC损伤, 从而引起胃肠动力紊乱。Lu等^[46]报道肠道炎症模型狗慢波波幅缩小, 且波幅的缩小与环形肌ICC的损伤有关。因此, ICC形态及数量的异常可能与感染后IBS的发病有关。

2.4 ICC与IBS胃肠激素异常 目前研究认为胃肠激素的异常是IBS的发病机制之一, 众多研究也发现IBS患者存在胃肠激素表达异常^[47,48]。ICC上存在多种胃肠激素受体, ICC可能通过介导胃肠激素参与IBS的发病过程。

2.4.1 ICC与五羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT): IBS患者胃肠道存在5-HT表达的异常^[47,49,50]。Dunlop等^[47]报道便秘型IBS患者血浆5-HT水平降低, 而腹泻型IBS患者血浆5-HT水平升高。5-HT是一种旁分泌信使, 其作为感觉换能器, 刺激内源性和外源性初级传入神经元, 分别引起蠕动和分泌反射并将信号传送到中枢神经系统。研究发现ICC细胞膜上表达五羟色胺(5-HT)受体^[37], ICC可能通过中介5-HT引起IBS症状的产生。同时, 5-HT对ICC亦有一定影响, Wouters等^[51]报道5-HT_{2B}受体通过激活蛋白激酶C-γ介导ICC增值。

2.4.2 ICC与缩胆囊素及神经激肽: 近年研究发现某些肽类激素如缩胆囊素、神经激肽等可能与IBS症状有关, 这有助于解释胃肠动力异常、内脏高敏感及精神因素之间的内在联系。Zhang等^[48]报道IBS患者血浆和肠组织缩胆囊素水平较正常人明显升高, 而神经肽Y水平降低, 且腹泻型IBS患者较便秘型IBS患者降低更明显。ICC表达缩胆囊素受体、神经激肽受体, 并可观察到ICC对缩胆囊素、神经激肽均有反应^[37,52]。因此, ICC可能通过中介缩胆囊素、神经激肽等递质参与IBS的发病过程。

3 结论

ICC与IBS有一定关系, ICC可能参与IBS的发病过程。但ICC在IBS发病中的确切机制尚不明, 有待于进一步研究。随着对ICC生理功能及病理改变研究的深入, 人们对于IBS的认识和诊治水平可能会得到提高。深入开展ICC与IBS关系的研究将可能为IBS的病理研究及治疗提供新的认识。

4 参考文献

- 1 Jee SR, Morales W, Low K, Chang C, Zhu A, Pokkunuri V, Chatterjee S, Soffer E, Conklin JL, Pimentel M. ICC density predicts bacterial overgrowth in a rat model of post-infectious IBS. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3680-3686 [PMID: 20677340 DOI: 10.3748/wjg.v16.i29.3680]
- 2 刘书中, 陈明锴, 郑双英, 沈世强. 跨膜蛋白16A介导感染后肠易激综合征中白细胞介素-4对Cajal细胞损伤的机制 *中华实验外科杂志* 2013; 30: 958-960
- 3 韩真, 王运东. 腹泻型肠易激综合征模型大鼠肠道Cajal间质细胞的变化及意义. *中国病理生理杂志* 2008; 24: 2263-2264, 2271
- 4 Vannucchi MG. Receptors in interstitial cells of Cajal: identification and possible physiological roles. *Microsc Res Tech* 1999; 47: 325-335 [PMID: 10602292 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0029(19991201)47]
- 5 Sanders KM, Zhu MH, Britton F, Koh SD, Ward SM. Anoctamins and gastrointestinal smooth muscle excitability. *Exp Physiol* 2012; 97: 200-206 [PMID: 22002868 DOI: 10.1113/expphysiol.2011.058248]
- 6 Sanders KM. A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 1996; 111: 492-515 [PMID: 8690216 DOI: 10.1053/gast.1996.v111.pm8690216]
- 7 Ward SM, Sanders KM, Hirst GD. Role of interstitial cells of Cajal in neural control of gastrointestinal smooth muscles. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16 Suppl 1: 112-117 [PMID: 15066015 DOI: 10.1111/j.1743-3150.2004.00485.x]
- 8 Torihashi S, Horisawa M, Watanabe Y. c-Kit immunoreactive interstitial cells in the human gastrointestinal tract. *J Auton Nerv Syst* 1999; 75: 38-50 [PMID: 9935268 DOI: 10.1016/S0165-1838(98)00174-X]
- 9 Hirst GD, Beckett EA, Sanders KM, Ward SM. Regional variation in contribution of myenteric and intramuscular interstitial cells of Cajal to generation of slow waves in mouse gastric antrum. *J Physiol* 2002; 540: 1003-1012 [PMID: 11986385 DOI: 10.1111/j.1469-7793.2002.t01-1-01003.x]
- 10 Mazet B, Raynier C. Interstitial cells of Cajal in the guinea pig gastric antrum: distribution and regional density. *Cell Tissue Res* 2004; 316: 23-34 [PMID: 14986098 DOI: 10.1007/s00441-003-0835-9]
- 11 Rømer P, Mikkelsen HB. c-kit immunoreactive interstitial cells of Cajal in the human small and large intestine. *Histochem Cell Biol* 1998; 109: 195-202 [PMID: 9541467]
- 12 Mazzia C, Porcher C, Julé Y, Christen MO, Henry M. Ultrastructural study of relationships between c-kit immunoreactive interstitial cells and other cellular elements in the human colon. *Histochem Cell Biol*

- 2000; 113: 401-411 [PMID: 10883399]
- 13 Popescu LM, Hinescu ME, Ionescu N, Ciontea SM, Cretoiu D, Ardelean C. Interstitial cells of Cajal in pancreas. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 169-190 [PMID: 15784175 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2005.tb00347.x]
 - 14 Xu D, Yu BP, Luo HS, Chen LD. Control of gallbladder contractions by cholecystokinin through cholecystokinin-A receptors on gallbladder interstitial cells of Cajal. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2882-2887 [PMID: 18473415 DOI: 10.3748/wjg.14.2882]
 - 15 Lang RJ, Klemm MF. Interstitial cell of Cajal-like cells in the upper urinary tract. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 543-556 [PMID: 16202204 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2005.tb00487.x]
 - 16 Sergeant GP, Hollywood MA, McHale NG, Thornbury KD. Ca²⁺ signalling in urethral interstitial cells of Cajal. *J Physiol* 2006; 576: 715-720 [PMID: 16916912 DOI: 10.1113/jphysiol.2006.115956]
 - 17 Ciontea SM, Radu E, Regalia T, Ceafalan L, Cretoiu D, Gherghiceanu M, Braga RI, Malincenco M, Zagrean L, Hinescu ME, Popescu LM. C-kit immunopositive interstitial cells (Cajal-type) in human myometrium. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 407-420 [PMID: 15963260 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2005.tb00366.x]
 - 18 Harhun MI, Gordienko DV, Povstyan OV, Moss RF, Bolton TB. Function of interstitial cells of Cajal in the rabbit portal vein. *Circ Res* 2004; 95: 619-626 [PMID: 15331453 DOI: 10.1161/01.RES.0000143014.04535.a3]
 - 19 Pucovsky V, Moss RF, Bolton TB. Non-contractile cells with thin processes resembling interstitial cells of Cajal found in the wall of guinea-pig mesenteric arteries. *J Physiol* 2003; 552: 119-133 [PMID: 12897177 DOI: 10.1113/jphysiol.2003.046243]
 - 20 Popescu LM, Gherghiceanu M, Hinescu ME, Cretoiu D, Ceafalan L, Regalia T, Popescu AC, Ardeleanu C, Mandache E. Insights into the interstitium of ventricular myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLC). *J Cell Mol Med* 2006; 10: 429-458 [PMID: 16796810 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00410.x]
 - 21 Suciu L, Popescu LM, Gherghiceanu M. Human placenta: de visu demonstration of interstitial Cajal-like cells. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 590-597 [PMID: 17635651 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2007.00058.x]
 - 22 Huizinga JD, Thuneberg L, Klüppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 1995; 373: 347-349 [PMID: 7530333]
 - 23 Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Sanders KM. Mutation of the proto-oncogene c-kit blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. *J Physiol* 1994; 480 (Pt 1): 91-97 [PMID: 7853230]
 - 24 Stanich JE, Gibbons SJ, Eisenman ST, Bardsley MR, Rock JR, Harfe BD, Ordog T, Farrugia G. Anol as a regulator of proliferation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 301: G1044-G1051 [PMID: 21940901 DOI: 10.1152/ajpgi.00196.2011]
 - 25 Perrino BA. Regulation of gastrointestinal motility by Ca²⁺/calmodulin-stimulated protein kinase II. *Arch Biochem Biophys* 2011; 510: 174-181 [PMID: 21443856 DOI: 10.1016/j.abb.2011.03.009]
 - 26 Ward SM, Beckett EA, Wang X, Baker F, Khoyi M, Sanders KM. Interstitial cells of Cajal mediate cholinergic neurotransmission from enteric motor neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 1393-1403 [PMID: 10662830]
 - 27 Iino S, Horiguchi K. Interstitial cells of cajal are involved in neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Acta Histochem Cytochem* 2006; 39: 145-153 [PMID: 17327901 DOI: 10.1267/ahc.06023]
 - 28 Spiller R, Garsed K. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 136: 1979-1988 [PMID: 19457422 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.074]
 - 29 Gibbons SJ, De Giorgio R, Faussone Pellegrini MS, Garrity-Park MM, Miller SM, Schmalz PF, Young-Fadok TM, Larson DW, Dozois EJ, Camilleri M, Stanghellini V, Szurszewski JH, Farrugia G. Apoptotic cell death of human interstitial cells of Cajal. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 85-93 [PMID: 18798796 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01185.x]
 - 30 贾后军, 童卫东, 刘宝华. 干细胞因子促进Cajal间质细胞恢复的研究. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 888-890
 - 31 周婷, 陈明镭, 张丽, 沈世强, 罗和生. 慢性综合应激对大鼠肠道Cajal间质细胞的影响. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 42-44
 - 32 Lammers WJ, Stephen B. Origin and propagation of individual slow waves along the intact feline small intestine. *Exp Physiol* 2008; 93: 334-346 [PMID: 18156170 DOI: 10.1113/expphysiol.2007.039180]
 - 33 Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA, Ahmed I. Electric activity of the colon in irritable bowel syndrome: the 'tachyarrhythmic' electric pattern. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 205-210 [PMID: 14731132 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03279.x]
 - 34 Wang XY, Vannucchi MG, Nieuwmeier F, Ye J, Faussone-Pellegrini MS, Huizinga JD. Changes in interstitial cells of Cajal at the deep muscular plexus are associated with loss of distention-induced burst-type muscle activity in mice infected by *Trichinella spiralis*. *Am J Pathol* 2005; 167: 437-453 [PMID: 16049330 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62988-4]
 - 35 郝筱倩, 赵董. 多种胃肠激素对肠易激综合征患者小肠运动功能的研究. *南方医科大学学报* 2007; 27: 1492-1495
 - 36 Powell AK, Bywater RA. Murine intestinal migrating motor complexes: longitudinal components. *Neurogastroenterol Motil* 2003; 15: 245-256 [PMID: 12787334 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2003.00405.x]
 - 37 Koh SD, Kim TW, Jun JY, Glasgow NJ, Ward SM, Sanders KM. Regulation of pacemaker currents in interstitial cells of Cajal from murine small intestine by cyclic nucleotides. *J Physiol* 2000; 527 Pt 1: 149-162 [PMID: 10944178]
 - 38 Chey WY, Jin HO, Lee MH, Sun SW, Lee KY. Colonic motility abnormality in patients with irritable bowel syndrome exhibiting abdominal pain and diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1499-1506 [PMID: 11374689 DOI: 10.1016/S0002-9270(01)02367-X]
 - 39 Plujà L, Albertí E, Fernández E, Mikkelsen HB, Thuneberg L, Jiménez M. Evidence supporting presence of two pacemakers in rat colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G255-G266 [PMID: 11408279]
 - 40 柯美云. 功能性胃肠病并非单纯功能病. *中国实用内科杂志: 临床前沿版* 2006; 26: 721-722
 - 41 丁瑞峰, 王爱鱼, 王宏杰, 郭元虎, 赵鹏程. 内脏高敏感大鼠结肠Cajal间质细胞C-KIT表达增加. *基础医学与临床* 2012; 32: 566-569
 - 42 Ohman L, Simrén M. Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 163-173 [PMID: 20101257 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.4]

■应用要点

深入研究ICC与IBS发病的关系, 有助于提高人们对于IBS的了解, 可能会为IBS的病理研究及治疗提供新的认识。

■同行评价

本文阐述ICC的分布、功能以及与IBS的关系,有助于对IBS的发病机制最新进展的了解。

- 43 Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Corinaldesi R. A role for inflammation in irritable bowel syndrome? *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i41-i44 [PMID: 12077063 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i41]
- 44 张静瑜, 黄裕新, 秦明, 王景杰. SCF/c-kit过度激活在肠易激综合征内脏敏化中的作用. *山西医科大学学报* 2012; 43: 177-181
- 45 Rubin G, De Wit N, Meineche-Schmidt V, Seifert B, Hall N, Hungin P. The diagnosis of IBS in primary care: consensus development using nominal group technique. *Fam Pract* 2006; 23: 687-692 [PMID: 17062586 DOI: 10.1093/fampra/cml050]
- 46 Lu G, Qian X, Berezin I, Telford GL, Huizinga JD, Sarna SK. Inflammation modulates in vitro colonic myoelectric and contractile activity and interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol* 1997; 273: G1233-G1245 [PMID: 9435548]
- 47 Dunlop SP, Coleman NS, Blackshaw E, Perkins AC, Singh G, Marsden CA, Spiller RC. Abnormalities of 5-hydroxytryptamine metabolism in irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 349-357 [PMID: 15822040 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00726-8]
- 48 Zhang H, Yan Y, Shi R, Lin Z, Wang M, Lin L. Correlation of gut hormones with irritable bowel syndrome. *Digestion* 2008; 78: 72-76 [PMID: 18948690 DOI: 10.1159/000165352]
- 49 李兆申, 詹丽杏, 邹多武, 许国铭, 满晓华, 叶熙亭. 肠易激综合征患者分泌5-羟色胺的肠嗜铬细胞形态及功能的改变. *中华消化杂志* 2004; 24: 94-97
- 50 朱良如, 谢小平, 钱伟, 侯晓华. 5-羟色胺在胃机械感觉过敏中的作用. *中华消化杂志* 2005; 25: 166-168
- 51 Wouters MM, Roeder JL, Tharayil VS, Stanich JE, Strega PR, Lei S, Bardsley MR, Ordog T, Gibbons SJ, Farrugia G. Protein kinase C[gamma] mediates regulation of proliferation by the serotonin 5-hydroxytryptamine receptor 2B. *J Biol Chem* 2009; 284: 21177-21184 [PMID: 19531484 DOI: 10.1074/jbc.M109.015859]
- 52 Patterson LM, Zheng H, Ward SM, Berthoud HR. Immunohistochemical identification of cholecystokinin A receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle, and enteric neurons in rat pylorus. *Cell Tissue Res* 2001; 305: 11-23 [PMID: 11512662 DOI: 10.1007/s004410100402]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

大肠癌筛查癌前病变人群随访问隔的研究进展

杨黎明, 杨琛, 闫蓓, 陈涵一, 孙乔

杨黎明, 孙乔, 上海市浦东新区疾病预防控制中心主任室 上海市 200136

杨琛, 闫蓓, 陈涵一, 上海市浦东新区疾病预防控制中心肿瘤、伤害防治与生命统计科 上海市 200136

杨黎明, 副主任医师, 主要从事肿瘤流行病学与慢性病防控策略研究。

上海市卫生局科研课题计划基金资助项目, No. 20134128

作者贡献分布: 杨黎明确立综述主题和研究方向; 陈涵一负责搜集文献; 杨黎明、杨琛、闫蓓及陈涵一共同完成综述的撰写与修改; 孙乔审核。

通讯作者: 孙乔, 主任医师, 200136, 上海市浦东新区张杨路3039号, 上海市浦东新区疾病预防控制中心主任办公室。

qsun@pdcdc.sh.cn

电话: 021-50352884

收稿日期: 2013-09-09 修回日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-12-18

Follow-up intervals for precancerous colorectal conditions

Li-Ming Yang, Chen Yang, Bei Yan, Han-Yi Chen, Qiao Sun

Li-Ming Yang, Qiao Sun, Office of Chief Director, Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200136, China

Chen Yang, Bei Yan, Han-Yi Chen, Department of Cancer, Injury Prevention and Vital Statistics, Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200136, China

Supported by: the Shanghai Municipal Health Bureau Fund, No. 20134128

Correspondence to: Qiao Sun, Chief Physician, Office of Chief Director, Pudong New Area Center for Disease Control and Prevention, 3039 Zhangyang Road, Pudong New Area, Shanghai 200136, China. qsun@pdcdc.sh.cn

Received: 2013-09-09 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-12-18

Abstract

Colorectal cancer screening is useful not only in detecting colorectal cancer at an early stage, but also in finding people with precancerous conditions. Proper interference in precancerous patients is good for reducing the occurrence of cancer. The precancerous conditions vary from patient to patient, so is the risk of malignant transformation. However, the lack of clear definition and classification for precancerous colorectal conditions in China makes standard treatment and follow-up management of these people difficult. This review summarizes basic

definition and classification for precancerous colorectal conditions, clarifies different risks among people, and introduces the latest progress in follow-up intervals worldwide.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer screening; Precancerous conditions; Follow-up interval; Colonoscopy

Yang LM, Yang C, Yan B, Chen HY, Sun Q. Follow-up intervals for precancerous colorectal conditions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3971-3976 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3971.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3971>

摘要

“大肠癌筛查”不仅有助于发现结直肠早癌患者, 还能及早识别结直肠癌前病变患者。合理干预结直肠癌前病变患者, 降低患者癌变可能, 有助于早期阻断结直肠癌发展进程。不同癌前病变患者其病变形式不同, 癌变风险也不一样。然而, 目前国内开展的“大肠癌筛查”工作缺乏针对癌前病变患者相应的诊疗和随访管理规范。本文就结直肠癌前病变的定义与分类、不同风险癌前病变患者及其诊疗和随访问隔的研究进展作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 大肠癌筛查; 癌前病变; 随访问隔; 结肠镜

核心提示: 本文就结直肠癌前病变的定义与分类、不同风险癌前病变患者及其诊疗和随访问隔的研究进展作综述。对于大肠癌癌前病变筛查及随访具有重要的现实意义。

杨黎明, 杨琛, 闫蓓, 陈涵一, 孙乔. 大肠癌筛查癌前病变人群随访问隔的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(35): 3971-3976 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3971.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3971>

0 引言

大肠癌又称结直肠癌, 是发生于结肠或直肠的

■背景资料

近年来我国结直肠癌发病率、死亡率逐年上升, 实现结直肠癌的“三早”预防意义重大。目前全国多地已相继开展“大肠癌筛查”工作。不同癌前病变的患者恶变差异大, 应当采取不同的诊治和随访策略。合理干预结直肠癌前病变患者, 有助于早期阻断结直肠癌发展过程。

■同行评议者

程英升, 教授, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

■ 研发前沿

国内开展的“大肠癌筛查”项目主要以危险度评估量表和粪便隐血试验作为初筛,初筛阳性者再通过结肠镜进一步筛查以判断确诊。但对结肠直肠癌前病变界定不一、疏于管理,缺乏相应的诊疗和随访规范指南。

恶性上皮性肿瘤^[1]。据全球恶性肿瘤统计数据显示,男性结直肠癌发病率、死亡率分列恶性肿瘤第3和第4位;女性则为第2和第3位^[2]。在我国,尤其是城市,结直肠癌发病率呈持续上升趋势,已成为最常见的恶性肿瘤之一^[3]。结直肠癌是可防可控的,早期发现患者5年存活率可达90%以上^[4]。筛查不仅有助于发现结直肠癌患者,特别是无症状早癌患者,还能识别息肉、不典型增生等癌前病变患者^[5]。因此,“大肠癌筛查”被认为是一项有益于公众健康的重大公共卫生服务项目。

一般认为,普通人群50岁以后应当进行大肠癌筛查^[6],初次全结肠镜筛查阴性者,建议间隔10年进行复查^[7];筛查确诊为结直肠癌患者,可依据我国卫生部《结直肠癌诊疗规范》进行治疗^[8]。然而,对于全结肠镜筛查为癌前病变患者,国内尚无相应的治疗、随访规范指南。研究显示,未经干预的癌前病变患者未来发展为结直肠癌的风险极高^[9-11];不同癌前病变患者恶变差异极大^[12]。合理干预结直肠癌前病变患者,针对不同风险癌前病变患者采取不同诊治和随访策略,既能提高患者依从性,又可避免不必要的医疗资源浪费^[13-15]。本文就不同风险结直肠癌前病变人群诊疗策略、随访复查间隔作综述。

1 定义与分类

结直肠癌前病变本身不是恶性肿瘤。息肉、不典型增生、炎性肠病等有可能发展为结直肠癌的病变被普遍归为癌前病变^[16]。2013年我国卫生部试行的《结肠癌规范化诊疗指南》根据组织学分类,将腺瘤、锯齿状病变、错构瘤、特殊息肉(Cowden相关性息肉、幼年性息肉、Peutz-Jeghers息肉)纳入癌前病变范畴^[17]。国外不少研究则根据形态学分类,将结直肠癌前病变分为息肉样病变和非息肉样病变。息肉样病变包括带蒂息肉和无蒂息肉;而非息肉样病变可分为扁平型、隆起型、凹陷型^[18-20]。

2 癌前病变与结直肠癌高危人群

2.1 遗传性高危人群 通常认为,5%-10%结直肠癌是由遗传因素所引起^[21]。因此,一些特殊的息肉样/非息肉样病变患者及其一级亲属是罹患结直肠癌的高风险人群,需要特别关注^[22,23]。(1)家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP):家族性腺瘤性息肉病是一种由腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli, APC)突变所致的常染色体显性遗传病,该病息肉属腺瘤,多发于远端结肠,腺瘤数目超过100枚,癌变的概率几乎为100%,几乎所有患者均会在40岁前罹患结直肠癌^[24]。衰减型家族性腺瘤性息肉病(attenuated familial adenomatous polyposis, AFAP)遗传学基础与FAP相同,但呈轻度病程,其结直肠腺瘤数目为10-99枚,结直肠癌平均发生年龄晚于FAP^[25];(2) MUTYH相关性息肉病(MUTYH associated polyposis, MAP):MUTYH相关性息肉病是由于MUTYH基因突变引起的,结直肠癌发病风险高。其临床表现与FAP、Lynch综合征等相似^[26];(3) PJ综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS):PJ综合征又称黑色素斑-胃肠息肉综合征,为单基因常染色体显性遗传病。息肉可发生于胃、小肠和结肠,息肉性质常为错构瘤^[27];(4) SPS综合征:锯齿状息肉综合征(serrated polyposis syndrome, SPS)是指满足以下任一条件的息肉样病变:乙状结肠附近至少有5个锯齿状息肉,其中2个直径超过1 cm;一级亲属患锯齿状息肉综合征,且自身乙状结肠附近发现锯齿状息肉;全结肠范围出现20个以上锯齿状息肉。目前普遍认为锯齿状息肉综合征是一种遗传性疾病,但具体遗传机制尚不清楚。SPS患者罹患结肠癌的风险明显增高,平均发病年龄在50-60岁^[28,29];(5) Lynch综合征:Lynch综合征患者罹患各类肿瘤,尤其是结直肠癌的风险高,故又称遗传性非息肉性大肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC),是一种常染色体显性遗传性疾病,占整个遗传性大肠癌发病率的10%-15%,其外显率为50%-60%^[30]。

2.2 非遗传性高危人群 除上述遗传性高危人群外,更多的癌前病变患者属于非遗传性人群。根据其癌前病变情况又可分为癌变低风险和癌变高风险两大类人群^[31]。腺瘤癌变风险主要与其大小、形态、数量、组织学类型和增生程度有关。多项研究显示^[32,33],超过1 cm的腺瘤未来癌变累积风险更高;绒毛状腺瘤癌变率较管状腺瘤和管状绒毛状腺瘤高;腺瘤的异型增生程度越高,癌变的危险越大。因此,普遍将结肠息肉数≥3个、或息肉直径≥1 cm、或具有绒毛状结构、或重度异型增生癌变可能大的癌前病变患者归为癌变高风险人群^[34]。此外,锯齿状息肉和扁平型息肉也日渐受到国内外专家关注。锯齿状息肉形态学复杂,可以分为不典型增生、无蒂锯齿状息肉/腺瘤和典型锯齿状腺瘤,后者具有更高的癌变可能^[35,36]。扁平型息肉是指息肉高度

低于其周边黏膜层2倍高度的息肉. 其体积虽小, 但重度异型增生率很高. 约20%-30%结直肠癌早期患者体内曾发现扁平型息肉, 因而也被认为是重要的癌前病变^[37].

2.3 其他高危人群 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)又称肠炎, 主要分为溃疡性结肠炎和克罗恩病两类. 上述两种炎症性肠病都有癌变可能, 癌变几率与病程长短、累及范围、是否出血或伴随其他症状有关^[38]. (1)溃疡性结肠炎患者. 溃疡性结肠炎好发于直肠和结肠, 发病年龄多见于20-40岁. 癌变率与病程密切相关, 发病8-10年癌变风险逐年上升, 病程20年和30年以上者, 癌变率分别为5%-10%和12%-20%, 病程超过35年者其癌变率可达30%^[39,40]; 累及全结肠的比仅累及左结肠的癌变率更高^[41]. 此外, 结直肠有出血性溃疡、假息肉、瘢痕或管腔狭窄者恶变危险性更大; (2)克罗恩病患者. 克罗恩病是一种炎性肉芽肿性疾病, 多见于末段回肠和邻近结肠, 发病年龄多在15-30岁. 克罗恩病患者结直肠癌变机会较少, 但癌变发生率仍比普通人群高^[42]. 此外, 丹麦新近一项研究发现, 克罗恩病患者有肿瘤超额危险, 并指出超额危险与肿瘤亚型有关^[43]. 由于绝大多数IBD患者癌变是经上皮内瘤变发展而来的, 因此上皮内瘤变的分类对于判断IBD患者癌变风险有重要意义^[44]. 从形态学角度上皮内瘤变主要分为异型增生伴随病变或肿块(dysplasia-associated lesion or mass, DALM)和腺瘤样肿块(adenoma-like mass, ALM). DALM通常发生于IBD长期患者. 表现为扁平或凸起型病变/肿块, 与黏膜边缘不清, 须经组织学鉴定才能判断是否发生癌变. ALM是散发的腺瘤, 其形态与非IBD患者体内腺瘤相似. 通常建议DALM患者预防性肠切除, 而对于ALM患者, 普通息肉切除术即可^[45]. 两者的区分对于患者进一步采取何种诊治措施有重要意义.

3 癌前病变人群的诊治策略及随访问隔

目前推荐的大肠癌筛查方法主要是粪便隐血试验、乙状结肠镜和全结肠镜检查^[46]. 上述3种筛查方式中, 粪便隐血试验发现的阳性患者仍需进行全结肠镜检查以判断是假阳性还是结直肠癌或癌前病变患者. 其余两种方式筛查结果皆可直接作为判定依据, 但全结肠镜检是唯一被推荐作为息肉切除术后患者随访所用^[7]. 确诊为癌前病变患者后, 需根据其病变情况进行风险

分级. 低风险癌前病变患者包括不典型增生、息肉<1 cm以及仅有1-2个<1 cm管状腺瘤患者; 而高风险癌前病变患者其腺瘤数目往往≥3个、或是绒毛状腺瘤、或息肉直径≥1 cm、或存在高级别不典型增生. 此外, IBD长期患者作为特殊的高风险人群也纳入讨论, 以下列述不同风险癌前病变患者的诊治策略和随访问隔^[34,47].

3.1 低风险癌前病变患者 (1)不典型增生或息肉<1 cm患者. 这类患者一般不需要临床干预, 根据患者病变部位有如下结直肠镜随访建议: 若病变位于患者左侧结肠(左侧结肠包括脾曲、降结肠、乙状结肠和直肠), 建议10年后行结肠镜复查; 若病变位于右侧结肠(包括盲肠、升结肠和横结肠), 建议5年后行结肠镜复查; (2)有1-2个管状腺瘤且都<1 cm的患者. 这类患者一般也不需要临床干预, 建议5年内行结肠镜复查, 若未再查出新发息肉或其他病变, 则今后每10年行结肠镜检查.

3.2 高风险癌前病变患者 (1)有3-10个腺瘤患者、或形态复杂、或腺瘤≥1 cm. 建议患者行息肉切除术后如怀疑未切除干净; 或是锯齿状腺瘤, 腺瘤本身较大, 术后2-6 mo先进行结肠镜复查, 如果没有新情况, 原来的息肉也已切除干净, 则3年内再行结肠镜复查. 若仍未再查出息肉, 可延长至5年后行结肠镜复查; (2)IBD患者. 美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)建议8-10年且累及全结肠的IBD患者, 或仅累及左侧结肠但病程超过12年的IBD患者每1-2年进行结肠镜检, 并在临床静息期每隔10 cm行4象限活检, 最好取30块以上组织标本. 根据组织形态学判断是否存在异型增生、上皮内瘤变或腺瘤并确定是否进行相应手术. 英国胃肠病学会(British Society of Gastroenterology, BSG)则认为IBD患者应当根据病情分级采取不同随访策略, 比如, 建议克罗恩病患者肠黏膜累及少于50%者, 结直肠镜随访问隔为5年; 结肠广泛炎症并处于轻度炎症或非炎症息肉者建议每3年随访一次; 异型增生5年、结肠广泛炎症并处于中/重度炎症建议每年结直肠镜随访^[48].

3.3 极高风险癌前病变患者 NCCN将腺瘤数超过10个的癌前病变患者归为极高风险癌变患者, 认为此类患者都有基因检测的必要^[34], 应根据其病理特征, 结合临床表现、既往史和家族史(含一、二、三级亲属), 进行相应的结直肠癌遗传性基因检测, 确定是否具有遗传性及其归属,

■相关报道

2013年美国国家综合癌症网络(NCCN)发布了《结直肠癌筛查临床规范》, 详细列述了不同人群(包括癌前病变人群)临床诊疗及建议随访时间, 但对部分癌前病变患者建议的随访问隔及随访方式与英国胃肠病学会(BSG)的随访指南不相同.

■创新盘点

目前国内开展的“大肠癌筛查”工作缺乏针对癌前病变患者相应的诊疗和随访管理规范。本文重点阐述了不同风险癌前病变患者诊疗和随访间隔的研究进展,对于完善目前国内“大肠癌筛查”项目实施方案,特别是针对大肠癌癌前病变患者的诊疗及随访流程具有极为重要的价值。

并采取以下诊治随访策略: (1)若为FAP患者,应行肠切除术/预防性肠切除术; (2)若为AFAP患者,根据腺瘤数量、腺瘤大小开展相应手术。若腺瘤数 ≤ 20 个,且大小均 < 1 cm,则每1-2年应进行结肠镜检;若为严重的多发性息肉,建议行回直肠吻合术(ileo-rectal anastomoses, IRA),且每6-12 mo行内镜检查; (3)若为MAP患者,则每1-2年应进行结肠镜检或必要的肠切除术; (4)若为SPS患者,则所有 ≥ 5 mm锯齿状息肉应全部切除,随后依据患者病情每1-3年进行结肠镜检; (5)若为Lynch综合征患者,腺瘤切除术后,建议每1-2年行结肠镜检。

4 现状与问题

国内开展的“大肠癌筛查”项目主要是以危险度评估量表和粪便隐血试验作为初筛,初筛阳性者再通过结直肠镜进一步筛查以判断确诊^[49]。然而,目前的筛查项目普遍缺乏针对结直肠癌前病变患者诊疗和随访的规范^[50]。不同大肠癌筛查定点医疗机构对癌前病变也存在界定不一,疏于管理的现象。另外,国内对于结直肠癌高危人群的相关遗传基因检测尚不重视,普遍缺乏基因检测的意识。

2013年美国国家综合癌症网络(NCCN)发布了《结直肠癌筛查临床规范》,详细列述了不同人群(包括癌前病变人群)临床诊疗及建议随访时间。但对部分癌前病变患者建议的随访间隔及随访方式与英国胃肠病学会(BSG)的随访指南不相同^[48]。我国学者提出的随访建议时间为:非肿瘤性息肉摘除后每隔3-5年结直肠镜检查;高级别腺瘤切除术后每年进行结直肠镜随访;低级别者每年进行便隐血试验、每隔3年进行结直肠镜随访^[51],这与NCCN指南也不全一致。

5 结论

目前国内尚缺乏针对不同风险癌前病变患者诊疗和随访的规范指南。寻找适合我国“大肠癌筛查”结直肠癌前病变患者的诊疗、随访方案,针对不同风险癌前病变患者制订相应的规范指南,提高宣传及推广力度,具有重要的现实意义。

6 参考文献

- Stanley R, Hamilton, Lauri A, Aaltonen. Pathology and genetics of tumors of the digestive system. Lyon: IARC press, 2000: 103-104
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*

2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

- 郑荣寿, 张思维, 吴良有, 李光琳, 赵平, 赫捷, 陈万青. 中国肿瘤登记地区2008年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 1-12
- 王继恒, 李世荣. 我国结直肠癌筛查和早期诊断十年回顾: 1994-2005. *胃肠病学* 2006; 11: 245-250
- 张苏展. 我国开展结直肠癌筛查工作的必要性和可行性. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 16-18
- Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 739-750 [PMID: 19240699 DOI: 10.1038/ajg.2009.104]
- British Columbia Medical Association. BC Guidelines: colorectal screening for cancer prevention in asymptomatic patients. Available from: URL: http://www.bcguidelines.ca/pdf/colorectal_screening.pdf
- 中华人民共和国卫生部医政司. 结直肠癌诊疗规范(2010年版). *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 865-875
- Lieberman DA, Rex DK, Winawer SJ, Giardiello FM, Johnson DA, Levin TR. Guidelines for colonoscopy surveillance after screening and polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2012; 143: 844-857 [PMID: 22763141 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.001]
- Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, Leya J, Metz A, Sontag SJ. New occurrence and recurrence of neoplasms within 5 years of a screening colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1524-1529 [PMID: 12094877]
- Stryker SJ, Wolff BG, Culp CE, Libbe SD, Ilstrup DM, MacCarty RL. Natural history of untreated colonic polyps. *Gastroenterology* 1987; 93: 1009-1013 [PMID: 3653628]
- Naini BV, Odze RD. Advanced precancerous lesions (APL) in the colonic mucosa. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27: 235-256 [PMID: 23809243 DOI: 10.1016/j.bpg.2013.03.012]
- Goodwin JS, Singh A, Reddy N, Riall TS, Kuo YF. Overuse of screening colonoscopy in the Medicare population. *Arch Intern Med* 2011; 171: 1335-1343 [PMID: 21555653 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.212]
- Elsadani NN, East JE, Walters JR. New 2010 British Society of Gastroenterology colitis surveillance guidelines: costs and surveillance intervals. *Gut* 2011; 60: 282-283 [PMID: 20966028 DOI: 10.1136/gut.2010.225466]
- 马新源, 李其龙, 马万里. 大肠癌筛查的成本测算及成本控制. *中国肿瘤* 2011; 20: 422-424
- Sandouk F, Al Jerf F, Al-Halabi MH. Precancerous lesions in colorectal cancer. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 457901 [PMID: 23737765 DOI: 10.1155/2013/457901]
- 中华人民共和国卫生部. 结肠癌规范化诊疗指南(试行). URL: <http://www.chinagp.net/news/?794.html>, 2013
- Vormbrock K, Mönkemüller K. Difficult colon polypectomy. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 269-280 [PMID: 22816006 DOI: 10.4253/wjge.v4.i7.269]
- Sung JJ, Lau JY, Young GP, Sano Y, Chiu HM, Byeon JS, Yeoh KG, Goh KL, Sollano J, Rerknimitr

- R, Matsuda T, Wu KC, Ng S, Leung SY, Makharia G, Chong VH, Ho KY, Brooks D, Lieberman DA, Chan FK. Asia Pacific consensus recommendations for colorectal cancer screening. *Gut* 2008; 57: 1166-1176 [PMID: 18628378 DOI: 10.1136/gut.2007.146316]
- 20 Konishi F. Runme Shaw Memorial Lecture 2002. Modern management of colorectal polyps: Are they all premalignant? *Ann Acad Med Singapore* 2003; 32: 263-268 [PMID: 12772533]
- 21 Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 919-932 [PMID: 12621137 DOI: 10.1056/NEJMra012242]
- 22 Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F. Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol* 2013; 43: 973-984 [PMID: 23900573 DOI: 10.3892/ijo.2013.2041]
- 23 Patel SG, Ahnen DJ. Familial colon cancer syndromes: an update of a rapidly evolving field. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 428-438 [PMID: 22864806 DOI: 10.1007/s11894-012-0280-6]
- 24 Scott RJ, Meldrum C, Crooks R, Spigelman AD, Kirk J, Tucker K, Koorey D. Familial adenomatous polyposis: more evidence for disease diversity and genetic heterogeneity. *Gut* 2001; 48: 508-514 [PMID: 11247895 DOI: 10.1136/gut.48.4.508]
- 25 苏芳, 王涛, 王邦茂. 衰减型家族性腺瘤性息肉病. *中国消化内镜* 2008; 8: 20-26
- 26 De Schepper HU, Fierens H, Steger PH, Colemont L. MUTYH associated polyposis coli: one common and one rare mutation. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1968-1970 [PMID: 22402879 DOI: 10.1007/s10620-012-2107-6]
- 27 Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Loff S, Back W, Pagenstecher C, McLeod DR, Graham GE, Mangold E, Santer R, Propping P, Friedl W. High proportion of large genomic STK11 deletions in Peutz-Jeghers syndrome. *Hum Mutat* 2005; 26: 513-519 [PMID: 16287113 DOI: 10.1002/humu.20253]
- 28 Guarinos C, Sánchez-Fortún C, Rodríguez-Soler M, Alenda C, Payá A, Jover R. Serrated polyposis syndrome: molecular, pathological and clinical aspects. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2452-2461 [PMID: 22654442 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2452]
- 29 Aust DE, Baretton GB. Serrated polyps of the colon and rectum (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas, traditional serrated adenomas, and mixed polyps)-proposal for diagnostic criteria. *Virchows Arch* 2010; 457: 291-297 [PMID: 20617338 DOI: 10.1007/s00428-010-0945-1]
- 30 Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, Tops CM, Vasen HF, Wijnen JT, Breuning MH, Bröcker-Vriends AH. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 213-225 [PMID: 16870997 DOI: 10.3322/canjclin.56.4.213]
- 31 Saini SD, Kim HM, Schoenfeld P. Incidence of advanced adenomas at surveillance colonoscopy in patients with a personal history of colon adenomas: a meta-analysis and systematic review. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 614-626 [PMID: 16996358 DOI: 10.1016/j.gie.2006.06.057]
- 32 李建国. 结直肠腺瘤性息肉电切术后复发危险因素分析及随访策略探讨. 中南大学, 2011
- 33 郑树, 黄彦钦, 董琦. 我国结直肠癌筛查的历程与展望. *实用肿瘤杂志* 2013; 28: 227-228
- 34 Burt RW, Barthel JS, Dunn KB, David DS, Drelichman E, Ford JM, Giardiello FM, Gruber SB, Halverson AL, Hamilton SR, Ismail MK, Jasperson K, Lazenby AJ, Lynch PM, Martin EW, Mayer RJ, Ness RM, Provenzale D, Rao MS, Shike M, Steinbach G, Terdiman JP, Weinberg D. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Colorectal cancer screening. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8: 8-61 [PMID: 20064289]
- 35 Tadros M, Anderson JC. Serrated polyps: clinical implications and future directions. *Curr Gastroenterol Rep* 2013; 15: 342 [PMID: 23934652 DOI: 10.1007/s11894-013-0342-4]
- 36 Álvarez C, Andreu M, Castells A, Quintero E, Bu-janda L, Cubiella J, Salas D, Lanás A, Carballo F, Morillas JD, Hernández C, Jover R, Sarasqueta C, Enríquez-Navascués JM, Hernández V, Estévez P, Macenlle R, Sala T, Balaguer F, Pellisé M, Moreira L, Gil I, Peris A, González-Rubio F, Ferrández A, Poves C, Ponce M, Grau J, Serradesanferm A, Ono A, Cruzado J, Pérez-Riquelme F, Alonso-Abreu I, Carrillo-Palau M, Santander C, Díaz Tasende J, Her- reros A, Cacho G, Barranco LE, Bessa X. Relationship of colonoscopy-detected serrated polyps with synchronous advanced neoplasia in average-risk individuals. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 333-341. e1 [PMID: 23623039 DOI: 10.1016/j.gie.2013.03.003]
- 37 Raju GS, Vadyala V, Slack R, Krishna SG, Ross WA, Lynch PM, Bresalier RS, Hawk E, Strohlein JR. Adenoma detection in patients undergoing a comprehensive colonoscopy screening. *Cancer Med* 2013; 2: 391-402 [PMID: 23930215 DOI: 10.1002/cam4.73]
- 38 Cairns SR, Scholefield JH, Steele RJ, Dunlop MG, Thomas HJ, Evans GD, Eaden JA, Rutter MD, Atkin WP, Saunders BP, Lucassen A, Jenkins P, Fairclough PD, Woodhouse CR. Guidelines for colorectal cancer screening and surveillance in moderate and high risk groups (update from 2002). *Gut* 2010; 59: 666-689 [PMID: 20427401 DOI: 10.1136/gut.2009.179804]
- 39 Rogler G. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer. *Cancer Lett* 2013 Aug 11. [Epub ahead of print] [PMID: 23941831 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.07.032]
- 40 Arthurs EA, Burley K, Gholkar B, Williams L, Lockett M. Colorectal cancer surveillance in inflammatory bowel disease: a primary care perspective. *Gut* 2011; 60: A130 [DOI: 10.1136/gut.2011.239301.275]
- 41 Julka M, Cherukuri M, Lameh R. Screening for cancerous and precancerous conditions of the colon. *Prim Care* 2011; 38: 449-468; viii [PMID: 21872091 DOI: 10.1016/j.pop.2011.05.009]
- 42 Scaringi S, Di Martino C, Zamboni D, Fazi M, Canonico G, Leo F, Ficari F, Tonelli F. Colorectal cancer and Crohn's colitis: clinical implications from 313 surgical patients. *World J Surg* 2013; 37: 902-910 [PMID: 23381673 DOI: 10.1007/s00268-013-1922-z]
- 43 Jess T, Horváth-Puhó E, Fallingborg J, Rasmussen HH, Jacobsen BA. Cancer Risk in Inflammatory Bowel Disease According to Patient Phenotype and Treatment: A Danish Population-Based Cohort Study. *Am J Gastroenterol* 2013 Aug 27. [Epub ahead of print] [PMID: 23978954 DOI: 10.1038/ajg.2013.249]
- 44 Neumann H, Vieth M, Langner C, Neurath MF, Mudter J. Cancer risk in IBD: how to diagnose and how to manage DALM and ALM. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3184-3191 [PMID: 21912466 DOI: 10.3748/wjg.v17.i27.3184]
- 45 Loddenkemper C. Diagnostic standards in the pathology of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 576-583 [PMID: 19897978 DOI:

■应用要点

本文重点阐述了不同风险癌前病变患者诊疗和随访问隔的研究进展, 对于完善目前国内“大肠癌筛查”项目实施方案, 特别是针对大肠癌癌前病变患者的诊疗及随访流程具有极为重要的价值。

■同行评价

本文覆盖大肠癌前病变各种随访流程,有一定临床价值,对于大肠癌前病变筛查非常有价值,对其随访则更有意义。

- 10.1159/000233301]
- 46 邓尚新,蔡全才,李兆申. 大肠癌筛查方法的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 99-102
- 47 Baron TH, Smyrk TC, Rex DK. Recommended intervals between screening and surveillance colonoscopies. *Mayo Clin Proc* 2013; 88: 854-858 [PMID: 23910411 DOI: 10.1016/j.mayocp]
- 48 Guagnozzi D, Lucendo AJ. Colorectal cancer surveillance in patients with inflammatory bowel disease: What is new? *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 108-116 [PMID: 22523611 DOI: 10.4253/wjge.v4.i4.108]
- 49 李其龙,马新源,俞玲玲,姚开颜,马万里,薛峰. 大肠癌优化序贯筛查方案的应用研究. 浙江大学学报(医学版) 2011; 40: 272-275
- 50 Leung WK, Lau JY, Suen BY, Wong GL, Chow DK, Lai LH, To KF, Yim CK, Lee ES, Tsoi KK, Ng SS, Sung JJ. Repeat-screening colonoscopy 5 years after normal baseline-screening colonoscopy in average-risk Chinese: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2028-2034 [PMID: 19455125 DOI: 10.1038/ajg.2009.202]
- 51 陈坤,金明娟. 结直肠癌人群筛查策略. 浙江大学学报(医学版) 2011; 40: 233-236

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

薯蓣皂苷元通过MAPK通路对食管癌细胞Eca109的调控

林杰, 谈永飞, 马铁梁, 葛志军, 吴媛媛, 丁伟良, 冯加可, 蒋国军, 史国振, 唐志安

林杰, 谈永飞, 蒋国军, 史国振, 江苏大学附属宜兴医院心胸外科 江苏省宜兴市 214200

马铁梁, 丁伟良, 吴媛媛, 冯加可, 江苏大学附属宜兴医院中心实验室 江苏省宜兴市 214200

葛志军, 江苏大学附属宜兴医院重症医学科 江苏省宜兴市 214200

唐志安, 江苏大学附属宜兴医院中医科 江苏省宜兴市 214200

林杰, 江苏大学在读硕士, 主要从事心胸外科肿瘤方向的研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2012563

江苏省卫生厅医学科研基金资助项目, No. Z201218

作者贡献分布: 林杰与谈永飞对此文所作贡献均等; 此课题由谈永飞与林杰设计; 实验过程由林杰、马铁梁、丁伟良、吴媛媛及冯加可操作完成; 研究所用试剂和分析工具有谈永飞、葛志军、蒋国军、史国振及唐志安提供; 本论文写作由林杰与谈永飞完成。

通讯作者: 谈永飞, 教授, 主任医师, 214200, 江苏省宜兴市通贞观路75号, 江苏大学附属宜兴医院心胸外科。

yongfeitan@sina.com

电话: 0510-87330725

收稿日期: 2013-09-10 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-18

Diosgenin regulates proliferation, apoptosis, migration and invasion of human esophageal cancer Eca109 cells via the MAPK signaling pathway

Jie Lin, Yong-Fei Tan, Tie-Liang Ma, Zhi-Jun Ge, Yuan-Yuan Wu, Wei-Liang Ding, Jia-Ke Feng, Guo-Jun Jiang, Guo-Zhen Shi, Zhi-An Tang

Jie Lin, Yong-Fei Tan, Guo-Jun Jiang, Guo-Zhen Shi, Department of Cardiac & Thoracic Surgery, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Tie-Liang Ma, Wei-Liang Ding, Yuan-Yuan Wu, Jia-Ke Feng, Central Laboratory, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Zhi-Jun Ge, Department of Critical Care Medicine, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Zhi-An Tang, Department of Traditional Chinese Medicine, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2012563; and the Medical Research Project of Health Department of Jiangsu Province, No. Z201218

Correspondence to: Yong-Fei Tan, Professor, Chief Physician, Department of Cardiac & Thoracic Surgery, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, 75 Tongzhenguan Road, Yixing 214200, Jiangsu Province, China. yongfeitan@sina.com

Received: 2013-09-10 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of diosgenin on the proliferation, apoptosis, migration and invasion of human esophageal Eca109 cells and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: MTT and transwell experiments were executed to detect the effects of diosgenin on the proliferation, migration and invasion of Eca109 cells. Western blot was applied to detect the expression of c-Jun N-terminal of stress-activated protein kinase (JNK), extracellular signal-regulated kinase (Erk1/2) and the p38 kinase of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway.

RESULTS: Compared with the control group, Eca109 cells treated with 50 µg/mL of diosgenin for 48 h showed significantly decreased proliferation, migration (16.54 vs 34.12, $P < 0.05$) and invasion (9.42 vs 26.99, $P < 0.05$) but increased apoptosis (0.24 vs 0.64, $P < 0.05$). Moreover, diosgenin treatment significantly decreased the expression of p-p38 protein (1.66 vs 0.23, $P < 0.05$) but had no significant effect on the expression of JNK, Erk1/2, p38, p-JNK, or p-Erk1/2.

CONCLUSION: Diosgenin regulates the proliferation, apoptosis, migration and invasion of Eca109 cells possibly via the p-p38 pathway.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diosgenin; Human esophageal cells; Eca109; Mitogen-activated protein kinase

Lin J, Tan YF, Ma TL, Ge ZJ, Wu YY, Ding WL, Feng JK, Jiang GJ, Shi GZ, Tang ZA. Diosgenin regulates proliferation, apoptosis, migration and invasion of human esophageal cancer Eca109 cells via the MAPK signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3977-3982 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3977.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3977>

摘要

目的: 探讨薯蓣皂苷元(diosgenin, Dio)对人食

■背景资料

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 常规的治疗方法有手术切除, 化疗及放疗, 这些方法有一定的不良反应和化疗耐药性。因此, 寻找一种高效低毒的天然植物药物对食管癌治疗具有重要临床意义。

■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

■ 研发前沿

薯蓣皂苷元是从我国特有的穿龙薯蓣中分离得到的一种植物甾体化合物。具有降血脂,降血糖,抗风湿,抗心肌缺血,抗肿瘤等重要作用。研究表明,薯蓣皂苷元对胃癌,结肠癌,非小细胞肺癌等多种癌症具有抑制作用。

管癌Eca109细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响以及其作用机制。

方法: MTT和Transwell实验检测薯蓣皂苷元对肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响。Western blot检测薯蓣皂苷元处理后的Eca109细胞丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路中c-jun氨基末端应激活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal of stress-activated protein kinase, JNK), 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, Erk1/2)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38)的蛋白表达水平。

结果: 食管癌Eca109细胞经过50 $\mu\text{g/mL}$ 的薯蓣皂苷元处理48 h后,与未经药物处理的对照组相比,细胞的增殖、迁移(16.54 vs 34.12, $P<0.05$)和侵袭(9.42 vs 26.99, $P<0.05$)效应显著下降,细胞的凋亡效应明显增加(0.24 vs 0.64, $P<0.05$)。Eca109细胞中p-p38蛋白的表达水平明显降低(1.66 vs 0.23, $P<0.05$),而JNK、Erk1/2、p38、p-JNK、p-Erk1/2蛋白表达水平的差异并不显著。

结论: 薯蓣皂苷元可能通过p-p38途径调控人食管癌细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 薯蓣皂苷元; 食管癌细胞Eca109; MAPK

核心提示: 薯蓣皂苷元可显著抑制食管癌Eca109细胞的增殖、迁移并诱导其凋亡,下调磷酸化的p38蛋白的表达可能是其诱导细胞凋亡的重要机制。

林杰, 谈永飞, 马铁梁, 葛志军, 吴媛媛, 丁伟良, 冯加可, 蒋国军, 史国振, 唐志安. 薯蓣皂苷元通过MAPK通路对食管癌细胞Eca109的调控. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3977-3982
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3977.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3977>

0 引言

食管癌是我国高发肿瘤,位居肿瘤死亡的第4位。其发生发展和多种细胞信号转导通路密切相关^[1]。手术和化疗为其主要治疗手段,临床使用的化疗药物主要通过诱导肿瘤细胞凋亡而发生抗癌效果,但同时其非选择性杀伤正常细胞也给肿瘤患者带来很多不良反应。虽然目前化疗药物为数不少,但是大多其有效率低,因此临床上急需找到高效,低毒的食管癌治疗方法。

薯蓣皂苷元(diosgenin, Dio)是一种植物甾体化合物,其抗肿瘤作用机制仍不明。薯蓣皂苷元能诱导多种肿瘤细胞的凋亡,抑制其迁移和侵袭效应^[2-5]。但目前尚无文献报告薯蓣皂苷元对人食管癌细胞Eca109的效应以及其作用机制。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)调控细胞的增殖、侵袭、迁移和分化,对研究肿瘤的发生、发展有重要的临床意义。主要包括3条信号通路: c-jun氨基末端应激活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal of stress-activated protein kinase, JNK), 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, Erk1/2)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38)^[6]。MAPK通路可在多种不同的信号转导通路中充当一种共同的信号转导成份,且在细胞周期调控中发挥重要的作用。本文主要研究薯蓣皂苷元应用于Eca109细胞后,探索其作用效果及相关机制,为食管癌的治疗提供新策略。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌细胞Eca109株购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)细胞库,培养于体积10%胎牛血清、100 $\mu\text{g/mL}$ 的链霉素、100 U/mL的青霉素的RPMI 1640的培养液中,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为50 mL/L CO_2 、饱和湿度的二氧化碳培养箱中培养。JNK(兔抗人)、p-JNK(兔抗人)、Erk1/2(兔抗人)、p-Erk1/2(兔抗人)、p38(兔抗人)、p-p38(兔抗人)抗体购自美国Cell Signaling公司; Bcl-2相关X蛋白(Bcl2-associated X protein, BAX)(兔抗人)和B细胞白血病/淋巴瘤相关蛋白(B cell leukemia/lymphoma 2, Bcl-2)(兔抗人)抗体购自Abcam公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自碧云天公司; 薯蓣皂苷元购自Sigma-Aldrich公司(货号: S8534-25MG)。

1.2 方法

1.2.1 显微镜观察细胞形态: 显微镜观察取对数生长期Eca109细胞株 $4 \times 10^4/\text{mL}$ 接种到24孔板内,1 mL/孔。加入不含血清的RPMI 1640培养液,培养24 h后,加入含不同浓度薯蓣皂苷元的RPMI 1640培养液(6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{g/mL}$),阴性对照组中加无薯蓣皂苷元的RPMI 1640培养液。药物分别作用24、48、72 h后,在倒置显微镜下观察细胞形态变化。

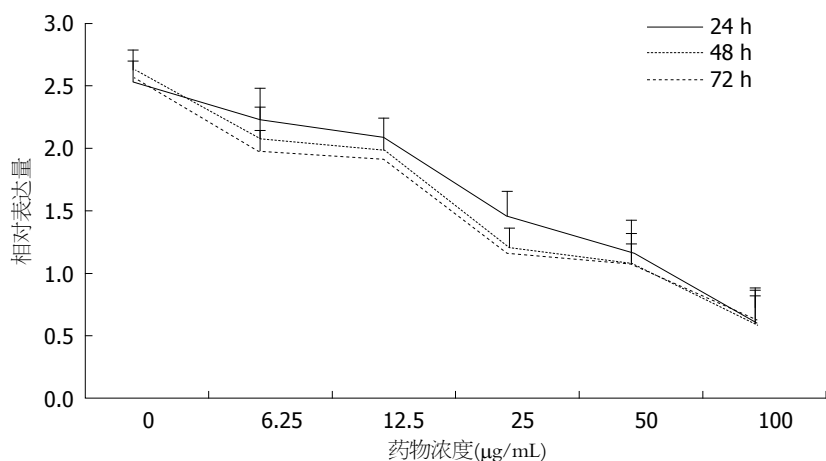


图 1 薯蓣皂苷元处理后 Eca109细胞活性.

■ 相关报道
MAPK属于一种蛋白激酶,可在多种不同的信号转导途径中充当一种共同的信号转导成份,且在细胞周期调控中发挥重要的作用.其中Erk1/2信号转导通路调控细胞生长和分化,JNK和p38信号转导通路在炎症与细胞凋亡中发挥重要作用.

1.2.2 MTT实验: 取对数生长期的Eca109细胞,用0.25%胰蛋白酶消化,以 1×10^5 /孔的密度接种于96孔板,每孔设5个复孔,并设阴性对照组.贴壁后,加入含不同浓度薯蓣皂苷元的RPMI 1640培养液.分别在培养24、48、72 h后,用酶标仪测570 nm处的吸光度(A_{570})值.

1.2.3 Transwell实验: 用于检测不同浓度(6.25、12.5、25、50、100 µg/mL)的薯蓣皂苷元对Eca109细胞株迁移(无基底膜组)、侵袭(有基底膜组)效应,实验采用孔径为8 µm的24孔Borden小室,上室中加入 2×10^5 个细胞,下室加入600 µL含体积分数为10%胎牛血清的RPMI 1640培养基.分别在培养24、48、72 h后, Giemsa染色,于200倍光镜下随机选择9个视野计数穿膜细胞数,取其平均值,作为穿过人工基底膜的细胞数量.

1.2.4 Western blot检测: 取对数生长期Eca109细胞,胰酶消化后调整细胞数为 5×10^5 /mL,以1 mL/孔接种于6孔板.待细胞贴壁后,加入最适浓度薯蓣皂苷元作用48 h,同时设置未加药物的阴性对照组,提取各组细胞总蛋白,经PAGE电泳后转膜,脱脂奶粉封闭,使用一抗,4 °C孵育过夜,加二抗,室温孵育2 h后洗二抗, ECL显影,观察及摄片.用Gel-Pro Analyzer4.0软件比较条带的积分光密度.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件对数据进行统计学处理.对计量资料,所得数据用mean ± SD表示,样本均数比较采用t检验或单因素方差分析(one way ANOVA). $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 薯蓣皂苷元对Eca109细胞形态的影响 未加薯蓣皂苷元的对照组Eca109细胞呈圆形贴壁生长.不同浓度的薯蓣皂苷元处理后,细胞形态发

生明显变化: 大小不一,轮廓不规则.在50 µg/mL浓度组中细胞表现为整体萎缩,变形,细胞折光减弱等经典细胞凋亡性状.在100 µg/mL浓度组中,细胞的增殖活性最低,细胞大量凋亡.

2.2 薯蓣皂苷元抑制Eca109细胞增殖 MTT比色法结果显示,不同浓度的薯蓣皂苷元处理Eca109细胞后,能明显抑制Eca109细胞的增殖,呈浓度依赖性.与阴性对照组相比,差异皆有统计学意义($P < 0.05$).其中,我们发现薯蓣皂苷元作用48 h和72 h组的生长抑制率要明显高于24 h(图1).

2.3 薯蓣皂苷元使得Eca109细胞凋亡下降 选取50 µg/mL浓度组中,薯蓣皂苷元处理Eca109细胞48 h后,用Western blot检测了凋亡相关的蛋白BAX和凋亡抑制蛋白Bcl-2.结果表明Bcl-2的表达随之下调,而BAX的表达显著升高,与对照组相比,具有统计学差异($P < 0.05$)(图2).

2.4 薯蓣皂苷元抑制Eca109细胞的迁移和侵袭 Transwell实验测定了薯蓣皂苷元对Eca109细胞的迁移和侵袭的影响.在薯蓣皂苷元处理组中,Eca109细胞的迁移以及侵袭能力明显减弱,穿膜细胞数明显减少,呈浓度依赖性,与阴性对照组比较,差异均具有统计学意义($P < 0.05$,图3).

2.5 薯蓣皂苷元对Eca109细胞MAPK信号通路蛋白表达的影响 取薯蓣皂苷元的最适浓度50 µg/mL作用48 h后, Western blot检测MAPK信号通路下游蛋白,实验结果表明, p-p38的蛋白含量显著降低,而p-JNK、JNK、p- Erk1/2、Erk1/2及p38变化都不明显(图4).

3 讨论

近年来的研究表明,中药抑制肿瘤生长的机理可能为以下几方面: 抑制肿瘤细胞的增殖,促进肿瘤细胞的凋亡,诱导肿瘤细胞的分化,抑制肿

■创新盘点

本文从MAPK信号通路中JNK、Erk1/2和p38磷酸化和非磷酸化蛋白含量的表达的变化,观察薯蓣皂苷元抑制食管癌Eca109细胞增殖及诱导其凋亡的作用,探讨其可能的分子机制。

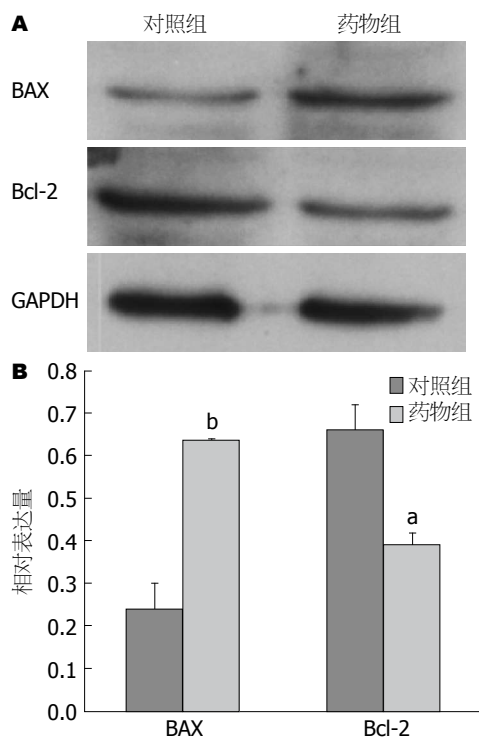


图2 薯蓣皂苷元处理后Eca109细胞后对BAX和Bcl-2凋亡蛋白表达的影响。A: 50 $\mu\text{g/mL}$ 薯蓣皂苷元作用于Eca109细胞48 h BAX、Bcl-2及GAPDH的蛋白表达量; B: 蛋白相对表达量。^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组。BAX: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞白血病/淋巴瘤相关蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

瘤细胞信号转导, 逆转多药耐药, 通过细胞自噬机制等^[7,8]。由于缺乏对中药作用规律的科学研究, 其抗肿瘤疗效势必受到影响。

薯蓣皂苷元是从天热中草薯蓣科植物中提取的有效成分, 具有抗肿瘤活性^[3-6]。据先前研究表明, 薯蓣皂苷元诱导人胃黏液腺癌MGC-823细胞的凋亡依赖Caspase3^[9]; 诱导人黑色素瘤A375-S2细胞, 人白血病细胞HL-60细胞, 人胃癌细胞SGC-7901细胞的增殖、分化和凋亡^[10-12]。我们的结果显示不同浓度的薯蓣皂苷元处理Eca109细胞后, 能明显抑制Eca109细胞的增殖活性, 并且呈剂量依赖性, 与先前研究结论一致。我们选取50 $\mu\text{g/mL}$ 组作为后续实验的研究对象。

BAX和Bcl-2蛋白与调控细胞凋亡相关。过度表达的Bcl-2抑制细胞的凋亡, BAX过度表达可以促进细胞的凋亡, 以阻止正常细胞的恶性转化^[13,14]。而且, BAX的低表达和Bcl-2的过度表达对细胞的凋亡可以产生协调作用^[15]。我们发现食管癌细胞Eca109经过薯蓣皂苷元处理48 h后, 用Western blot检测发现凋亡相关的蛋白BAX表达与对照组相比显著升高, 凋亡抑制蛋白Bcl-2表达明显降低。

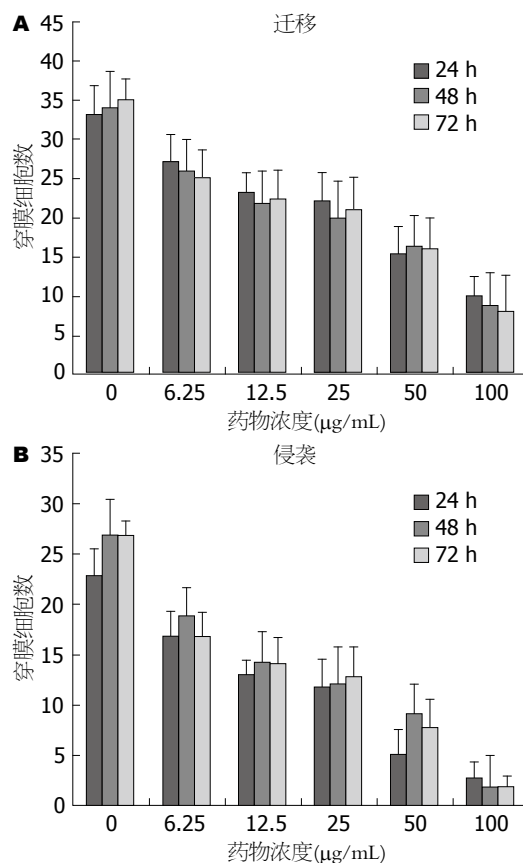


图3 薯蓣皂苷元处理后Eca109细胞迁移和侵袭的影响。A: 迁移; B: 侵袭。

凌博凡等^[16]研究发现薯蓣皂苷元明显抑制人结肠癌细胞LoVo的迁移和侵袭。我们通过Transwell实验观察薯蓣皂苷元对Eca109细胞的迁移和侵袭效应的影响。实验结果表明薯蓣皂苷元可以显著抑制Eca109细胞的迁移和侵袭, 并且呈浓度依赖性。

药物诱导细胞凋亡、增殖、分化和迁移等, 其分子机制十分复杂。很多基因的变化都参与调控细胞的凋亡、增殖、迁移效应。其中, MAPK信号通路最为经典。据文献报告, 薯蓣皂苷元通过抑制核因子- κ 轻链增强子(nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, NF- κ B)信号通路和p38 MAPK的激活, 可引起K562细胞的基因片段化^[17,18]; 薯蓣皂苷元在HEL细胞中, 破坏钙离子平衡, 激活p53, 调节Caspase3的活性, 诱导肿瘤细胞的凋亡^[19]。在Bcap37细胞和HT-29细胞中, 薯蓣皂苷元抑制环氧合酶-2(cyclooxygenase, COX-2)的表达, 促进其凋亡^[20,21]。相关研究表明, 在结肠癌细胞系HCT-116和HT-29中, 薯蓣皂苷元可以增加p38的激活, 但对JNK和Erk1/2的激活没有影响^[22]。在非小细胞肺癌A549细胞中, 薯蓣皂

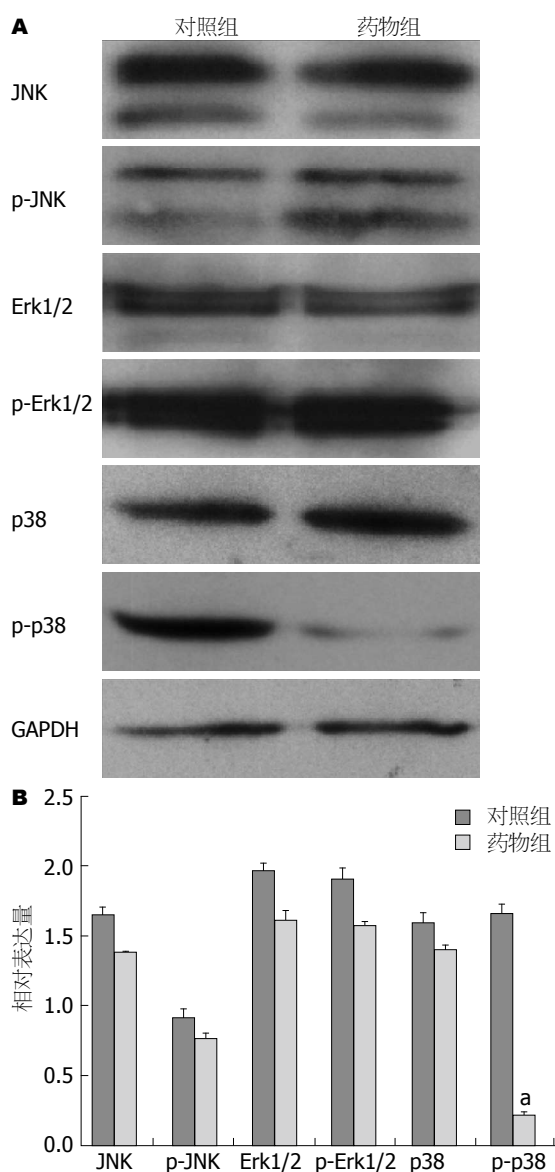


图4 薯蓣皂苷元处理后Eca109细胞中MAPK信号通路蛋白水平。A: 50 $\mu\text{g/mL}$ 薯蓣皂苷元作用于Eca109细胞48 h后, JNK、Erk1/2、p38、GAPDH及相应磷酸化p-JNK、p-Erk1/2、p-p38的蛋白表达量; B: 蛋白相对表达量。* $P < 0.05$ vs 对照组。JNK: c-jun氨基末端应激活化蛋白激酶; Erk1/2: 细胞外信号调节激酶; p38: p38丝裂原激活蛋白激酶; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

苷元和TRAIL两药合用导致MAPK信号途径中的JNK、Erk1/2、p38明显激活^[23]。为进一步探讨薯蓣皂苷元诱导Eca109细胞凋亡, 抑制其迁移和侵袭的作用机制。我们检测了MAPK信号转导通路中的3条主要通路蛋白, 实验结果表明, 磷酸化的p-p38蛋白水平含量在薯蓣皂苷元药物组中较阴性对照组明显降低, 非磷酸化的JNK、Erk1/2、p38差异不明显。另外, 磷酸化的p-JNK、p-Erk1/2在药物组和阴性对照组中差异亦不显著。相关研究表明, p38信号通路是MAPK

通路的一个重要分支, 在人肝细胞癌HepG2细胞中, p38可通过调节肿瘤抑制蛋白p53、BAX及凋亡相关蛋白Caspase9等因子启动抗增殖及凋亡作用^[24]。在肝癌细胞Hepa1-6及HepG2中, p38 MAPK可以通过调节p53、前凋亡分子CHOP-1和激活转录因子-2(activating transcription factor-2, ATF-2)介导肿瘤细胞的凋亡过程^[25]。总之, 我们认为, 在食管癌Eca109细胞中, 导致薯蓣皂苷元药物组中细胞的侵袭、迁移效应增强的原因是, 薯蓣皂苷元通过抑制p38蛋白的活性, 从而抑制了细胞的迁移和侵袭。

总之, 我们推测, 在食管癌细胞中, 薯蓣皂苷元可能通过p38通路对Eca109细胞的增殖、迁移、侵袭等起着调控作用, 而与JNK和Erk1/2通路关系并不密切。在一定程度上揭示了薯蓣皂苷元对MAPK信号转导通路的影响的潜在可能, 为临床上食管癌的治疗提供一定的线索。

4 参考文献

- 沐雨, 李苏宜. 肿瘤干细胞相关信号通路与食管鳞癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 373-380
- Raju J, Mehta R. Cancer chemopreventive and therapeutic effects of diosgenin, a food saponin. *Nutr Cancer* 2009; 61: 27-35 [PMID: 19116873 DOI: 10.1080/01635580802357352]
- Das S, Dey KK, Dey G, Pal I, Majumder A, Maiti-Choudhury S, Kundu SC, Mandal M. Antineoplastic and apoptotic potential of traditional medicines thymoquinone and diosgenin in squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e46641 [PMID: 23077516 DOI: 10.1371/journal.pone.0046641]
- He Z, Tian Y, Zhang X, Bing B, Zhang L, Wang H, Zhao W. Anti-tumour and immunomodulating activities of diosgenin, a naturally occurring steroidal saponin. *Nat Prod Res* 2012; 26: 2243-2246 [PMID: 22235932 DOI: 10.1080/14786419.2011.648192]
- Wang Z, Cheng Y, Wang N, Wang DM, Li YW, Han F, Shen JG, Yang de P, Guan XY, Chen JP. Dioscin induces cancer cell apoptosis through elevated oxidative stress mediated by downregulation of peroxiredoxins. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 138-147 [PMID: 22231406 DOI: 10.4161/cbt.13.3.18693]
- Yang SH, Sharrocks AD, Whitmarsh AJ. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene* 2013; 513: 1-13 [PMID: 23123731 DOI: 10.1016/j.gene.2012.10.033]
- 马向华, 马超英. 中药诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展. 时珍国医国药 2012; 23: 732-733
- 李鹏, 钟振国, 韦小青, 黄金兰. 中药抗肿瘤作用机制的研究进展. 世界中西医结合杂志 2008; 3: 297-298, 301
- 何忠梅, 张显涛, 王铁成. 薯蓣皂苷元诱导人胃低分化粘液腺癌MGC-803细胞凋亡依赖caspase3途径. 中国实验诊断学 2011; 15: 1813-1815
- 霍锐, 周秋丽, 王本祥, 王敏伟, 田代真一, 小野寺敏, 池岛乔. 薯蓣皂苷元诱导人黑素瘤细胞A375-S2凋亡依赖半胱天冬酶和MAPK途径. 中国药理学与毒理学杂志

■应用要点

下调p38的磷酸化水平, 可能是薯蓣皂苷元抑制食管癌Eca109细胞增殖、迁移并诱导其凋亡的机制之一, 本研究为进一步研究薯蓣皂苷元抗肿瘤的作用机制提供依据。

■同行评价

本文研究的有关食管癌与薯蓣皂苷元关系的研究目前国内外报道甚少,研究具有重要的临床意义。有一定的创新性。观察指标选择恰当,技术路线清晰结果可靠,结论客观。讨论部分条理分明,有系统的理论分析和有价值的结论。

- 11 李晶华, 历艳志, 张沐新, 宋宇, 王本祥, 周秋丽. 薯蓣皂苷元对HL-60细胞增殖及细胞周期的影响. 吉林农业大学学报 2003; 25: 533-535
- 12 Gao LL, Li FR, Jiao P, Yang MF, Zhou XJ, Si YH, Jiang WJ, Zheng TT. Paris chinensis dioscin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4389-4395 [PMID: 22110264 DOI: 10.3748/wjg.v17.i39.4389]
- 13 Kang MH, Reynolds CP. Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1126-1132 [PMID: 19228717 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0144]
- 14 Reed JC. Proapoptotic multidomain Bcl-2/Bax-family proteins: mechanisms, physiological roles, and therapeutic opportunities. *Cell Death Differ* 2006; 13: 1378-1386 [PMID: 16729025 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401975]
- 15 Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 488-496 [PMID: 17629468 DOI: 10.1016/j.coi.2007.05.004]
- 16 凌博凡, 王瑞平, 邹玺. 菝葜皂苷元对结肠癌细胞Lovo黏附和侵袭能力的影响. 辽宁中医药大学学报 2012; 2: 90-92
- 17 Gao M, Chen L, Yu H, Sun Q, Kou J, Yu B. Diosgenin down-regulates NF- κ B p65/p50 and p38MAPK pathways and attenuates acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. *Int Immunopharmacol* 2013; 15: 240-245 [PMID: 23246979 DOI: 10.1016/j.intimp.2012.11.019]
- 18 Wang L, Meng Q, Wang C, Liu Q, Peng J, Huo X, Sun H, Ma X, Liu K. Dioscin restores the activity of the anticancer agent adriamycin in multidrug-resistant human leukemia K562/adriamycin cells by down-regulating MDR1 via a mechanism involving NF- κ B signaling inhibition. *J Nat Prod* 2013; 76: 909-914 [PMID: 23621869 DOI: 10.1021/np400071c]
- 19 Caillieau C, Micallef L, Lepage C, Cardot PJ, Beneytout JL, Liagre B, Battu S. Investigating the relationship between cell cycle stage and diosgenin-induced megakaryocytic differentiation of HEL cells using sedimentation field-flow fractionation. *Anal Bioanal Chem* 2010; 398: 1273-1283 [PMID: 20714892 DOI: 10.1007/s00216-010-4062-4]
- 20 Ghezali L, Leger DY, Limami Y, Cook-Moreau J, Beneytout JL, Liagre B. Cyclopamine and jervine induce COX-2 overexpression in human erythroleukemia cells but only cyclopamine has a pro-apoptotic effect. *Exp Cell Res* 2013; 319: 1043-1053 [PMID: 23357584 DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.01.014]
- 21 Lepage C, Liagre B, Cook-Moreau J, Pinon A, Beneytout JL. Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways in diosgenin-induced apoptosis in HT-29 and HCT-116 colon cancer cells. *Int J Oncol* 2010; 36: 1183-1191 [PMID: 20372792 DOI: 10.3892/ijo.00000601]
- 22 Lepage C, Léger DY, Bertrand J, Martin F, Beneytout JL, Liagre B. Diosgenin induces death receptor-5 through activation of p38 pathway and promotes TRAIL-induced apoptosis in colon cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 301: 193-202 [PMID: 21195543 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.003]
- 23 何焱, 王继双, 张鹏, 张文静, 黄启来, 华子春. 薯蓣皂苷元联合TRAIL对非小细胞肺癌A549细胞的协同作用及其中效原理评价. 药理学报 2013; 48: 45-51
- 24 Kim BJ, Ryu SW, Song BJ. JNK- and p38 kinase-mediated phosphorylation of Bax leads to its activation and mitochondrial translocation and to apoptosis of human hepatoma HepG2 cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 21256-21265 [PMID: 16709574 DOI: 10.1074/jbc.M510644200]
- 25 邱建武, 郭薇, 申丽娟. p38MAPK在肝细胞癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 503-509

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



飞机客舱中的气压变化对胆道动力的影响

周 迈, 李天牧

周迈, 李天牧, 民航总医院普外科 北京市 100123
周迈, 副主任医师, 主要从事肝胆疾病的临床研究.
作者贡献分布: 课题的设计、研究过程、数据分析及论文写作
由周迈完成; 李天牧协助完成研究过程与数据分析工作.
通讯作者: 周迈, 副主任医师, 100123, 北京市朝阳区朝外高井
甲1号, 民航总医院普外科. zhoumai109@sina.cn
电话: 010-8576224-2382
收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-10-17
接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Impact of airplane cabin pressure on biliary motility in rabbits

Mai Zhou, Tian-Mu Li

Mai Zhou, Tian-Mu Li, Department of General Surgery,
General Hospital of Civil Aviation Administration of China,
Beijing 100123, China
Correspondence to: Mai Zhou, Associate Chief Physician,
Department of General Surgery, General Hospital of Civil
Aviation Administration of China, 1 Gaojingjia Chaowai,
Chaoyang District, Beijing 100123,
China. zhoumai109@sina.cn
Received: 2013-09-03 Revised: 2013-10-17
Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To observe the effect of the change in barometric pressure on biliary motility by using a hypobaric chamber to simulate a civil aircraft in flight.

METHODS: Forty-two rabbits were randomly divided into a control group ($n = 14$), a Ta group ($n = 14$, hypobaric exposure in a hypobaric chamber 3 times in 3 d) and a Tb group ($n = 14$, hypobaric exposure in a hypobaric chamber 7 times in 7 d). The level of cholecystokinin 8 (CCK8) was measured in the duodenal tissue and plasma. The expression of CCK-A receptor (CCK-AR) mRNA in gallbladder tissues was detected by RT-PCR. Quantitative analysis of ^{99m}Tc -EHIDA hepatobiliary dynamic imaging was made in each group.

RESULTS: Compared to the control group, the Ta group had lower levels of CCK8 both in duodenal tissue and plasma (Ta group *vs* C

group, $5.24 \text{ pg/mL} \pm 0.56 \text{ pg/mL}$ *vs* $6.25 \text{ pg/mL} \pm 0.53 \text{ pg/mL}$ in duodenal tissue, $P < 0.05$; $3.59 \text{ pg/mL} \pm 0.20 \text{ pg/mL}$ *vs* $4.61 \text{ pg/mL} \pm 0.10 \text{ pg/mL}$ in plasma, $P < 0.05$) and a significant delay in duodenal appearance time (Ta group *vs* C group, $114.73 \text{ s} \pm 13.34 \text{ s}$ *vs* $79.52 \text{ s} \pm 10.83 \text{ s}$, $P < 0.05$). Besides a delay in DAT and lower level of CCK8, decreased expression of CCK-A receptor mRNA was found in gallbladder tissues in the Tb group compared to the control group and Ta group (CCK-AR/ β -actin: Tb group *vs* C group: 0.56 ± 0.21 *vs* 0.82 ± 0.16 , $P < 0.05$; Tb group *vs* Ta group: 0.56 ± 0.21 *vs* 0.75 ± 0.29 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Barometric pressure change in a civil aircraft in flight shows some inhibitory effects on biliary motility.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Biliary motility; Hypobaric circumstance; Radionuclide imaging

Zhou M, Li TM. Impact of airplane cabin pressure on biliary motility in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3983-3987 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3983.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3983>

摘要

目的: 通过低压舱模拟民航客机飞行中的气压变化, 并观察其对家兔胆道动力的影响。

方法: 将家兔42只随机分为对照组(C组, $n = 14$)、Ta组($n = 14$, 低气压暴露1次/d, 连续3 d)、Tb组($n = 14$, 低气压暴露1次/d, 连续7 d)。分别观察家兔十二指肠组织、血清中胆囊收缩素8(cholecystokinin 8, CCK8)水平变化及胆囊组织中胆囊收缩素A受体(cholecystokinin A receptor, CCK-AR)表达的变化; 并进行 ^{99m}Tc -二乙基丁酰苯胺基亚氨二醋酸(^{99m}Tc -dimethyliminodiacetic acid, ^{99m}Tc -EHIDA)肝胆动态功能显像定量分析。

结果: 与C组相比, Ta组十二指肠显影时间

■背景资料

研究表明低压、低氧环境可以对胃肠道功能产生一定的抑制作用, 民航客机高空飞行时, 客舱中的通常维持于海拔1800-2400 m低气压水平, 本研究是想观察这种低气压环境是否会对机体的胆道系统产生影响。

■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

■ 研究前沿

航空航天是一特殊领域,各种飞行因素如低压、低氧、失重等对飞行员及空乘人员的生理、心理产生影响。而该领域目前主要集中于研究急性低压低氧对机体神经系统、心血管系统以及视力、听力的影响,而对消化系统,特别是胆道系统关注较少。

(duodenal appearance time, DAT)延长(Ta组 vs C组: 114.73 ± 13.34 s vs 79.52 ± 10.83 s, $P < 0.05$),十二指肠组织、血清中CCK水平下降(Ta组 vs C组: 十二指肠组织: $5.24 \text{ pg/mL} \pm 0.56 \text{ pg/mL}$ vs $6.25 \text{ pg/mL} \pm 0.53 \text{ pg/mL}$, $P < 0.05$; 血清: $3.59 \text{ pg/mL} \pm 0.20 \text{ pg/mL}$ vs $4.61 \text{ pg/mL} \pm 0.10 \text{ pg/mL}$, $P < 0.05$); Tb组除上述两项变化外,发现胆囊组织中CCK-AR的表达下降(CCK-AR/ β -actin: Tb组 vs C组: 0.56 ± 0.21 vs 0.82 ± 0.16 , $P < 0.05$; Tb组 vs Ta组: 0.56 ± 0.21 vs 0.75 ± 0.29 , $P < 0.05$)。

结论: 飞机客舱飞行中的气压变化对家兔的胆道动力有一定的抑制作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆道动力; 低气压; 核素显像

核心提示: 通过模拟民航客机飞行中的气压变化,本研究发家兔在这种环境中出现胆道排泄时间延长;十二指肠组织及血清中胆囊收缩素(cholecystokinin 8)水平降低;随着低气压暴露时间延长至7 d时,家兔胆囊组织中胆囊收缩素A受体(cholecystokinin A receptor)表达的下降,从而提示这种不伴有缺氧的低气压变化,可能会对胆道系统产生一定的抑制作用,但其长期影响尚需进一步观察。

周迈, 李天牧. 飞机客舱中的气压变化对胆道动力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3983-3987 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3983.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3983>

0 引言

民航客机经常在空中飞行,尽管经过加压处理,但由于气压相差过大,仍然无法在飞行中使客舱内保持地面气压水平,舱内通常保持海拔1800-2400 m的气压水平。这种骤然的气压变化可能给人体造成一些不适,如胃肠胀气、耳膜疼痛、甚至诱发龋齿疼痛等。那么这种变化是否会给胆道系统造成影响?而目前尚缺乏相关的研究报道^[1,2]。本实验以家兔为模型观察这种突然的、轻度的低气压变化是否会对胆道动力学造成影响,并对其机制进行初步地探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年家兔42只,体质量1.9-2.5 kg, 3-4月龄,雌雄不拘,由北京大学医学部实验动物中心提供。⁹⁹m钼-二乙基丁酰苯胺基亚氨二

醋酸(⁹⁹mTc-dimethyliminodiacetic acid, ⁹⁹mTc-EHIDA): 上海医药试剂公司;单光子发射型计算机断层显像(single photon emission computed tomography, SPECT): 美国GE公司Millennium MPR型;CBK248M型低压舱;兔胆囊收缩素8(cholecystokinin 8, CCK8) ELISA试剂盒: 武汉伊艾博科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型与分组: 所有动物随机分为3组,每组14只,所有动物20:00后不再投食喂水,以保证每日上午实验、取样时禁食12 h。对照组(C组): 禁食12 h后直接行肝胆动态显像、取样; Ta组: 低气压暴露每天一次,连续3 d后取样; Tb组: 低气压暴露每天一次,连续7 d后取样。

1.2.2 低气压暴露: 将实验家兔置入低压舱中,缓慢上升(20 m/s)至2000 m,停留1 h,然后以相同速度降至地面。

1.2.3 肝胆动态核素显像^[3-5]: SPECT仪探头配以低能高分辨率准直器,能峰140 keV,窗宽20%,矩阵128×128,放大系数2.0。家兔侧卧固定于兔台架上,经耳缘静脉注入⁹⁹mTc-EHIDA 37 MBq(1 mCi)后,将其置于探头视野中心下方,采集图像每3 s 1帧,连续采集40 min。应用感兴趣区(region of interest, ROI)技术对试餐前后的图像进行处理,画出胆囊区和十二指肠区为感兴趣区ROI,获得相应的放射性计数,计算出十二指肠显影时间(duodenal appearance time, DAT)、胆囊高峰摄取时间(the peak time, T_{max})及半排时间(1/2 excretory time, T_{1/2})。

1.2.4 标本采集: 家兔以3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉后剖腹,(1)心脏穿刺采血,6-8 mL/只;(2)切取胆囊;(3)切取十二指肠(约2 cm),0 °C PBS洗净,再加入PBS 5 mL,研磨成匀浆,离心5000 r/min×10 min,取上清2 mL。所有标本均-80 °C冷冻保存待测。

1.2.5 十二指肠组织、血清中CCK8、胆囊组织中胆囊收缩素A受体(cholecystokinin A receptor, CCK-AR)表达的检测: CCK8检测按ELISA试剂盒说明进行。CCK-AR表达的半定量RT-PCR:(1)样品RNA的抽提:按照试剂盒操作流程进行,TRIzol法提取总RNA;(2)引物序列:上游引物: 5'-CCATCATGACTCCGTACCCCA-3',下游引物: 5'-TGGCGCTGAAGATGGGCA-3';(3)逆转录样品cDNA合成:按照试剂盒操作流程进行,得到cDNA溶液,保存于-80 °C待用;(4)PCR反

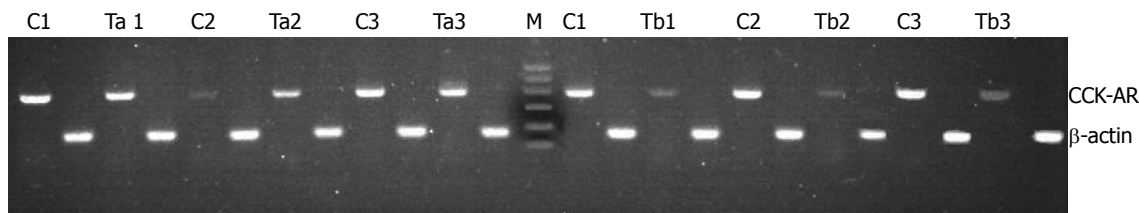


图1 CCK-AR表达的半定量RT-PCR. C: C组样本; Ta: Ta组样本; Tb: Tb组样本; β -actin: 内参照; CCK-AR: 胆囊收缩素A受体.

表1 各组的胆道动态核素显像数据 (mean \pm SD)

分组	DAT(s)	T _{max} (min)	T _{1/2} (min)
C组	79.52 \pm 10.83	4.18 \pm 0.77	10.18 \pm 0.75
Ta组	114.73 \pm 13.34 ^a	4.21 \pm 0.87	10.71 \pm 0.87
Tb组	99.44 \pm 11.12 ^c	4.04 \pm 1.06	10.57 \pm 1.07

^a $P < 0.05$ vs C组; ^c $P < 0.05$ vs C组. DAT: 十二指肠显影时间; T_{max}: 胆囊高峰摄取时间; T_{1/2}: 胆囊半排时间.

应: 反应体系为25 μ L, 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min, 然后95 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共40个循环, 72 $^{\circ}$ C 10 min, 4 $^{\circ}$ C Forever; (5)运用Tanon Gis软件进行吸光度扫描, 将 β -actin条带标准值设为1, 计算出各样品中CCK-AR条带的相对值.

统计学处理 数据均用mean \pm SD表示, 用统计软件SPSS10.0, 各组间数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 各组的胆道动态核素显像 十二指肠显影时间(DAT): Ta组、Tb组显著高于对照组(C组), Ta显著高于Tb组 (Ta组 vs C组: 114.73 s \pm 13.34 s vs 79.52 s \pm 10.83 s, $P = 0.000$; Tb组 vs C组: 99.44 s \pm 11.12 s vs 79.52 s \pm 10.83 s, $P = 0.000$; Ta组 vs Tb组: 114.73 s \pm 13.34 s vs 99.44 s \pm 11.12 s, $P = 0.041$); 胆囊高峰摄取时间(T_{max}): 各组间未见明显差异($P = 0.773$); 胆囊半排时间(T_{1/2}): 各组间未见明显差异($P = 0.260$)(表1).

2.2 兔十二指肠组织、血清胆囊收缩素(CCK8) ELISA检测结果及CCK-AR表达的半定量RT-PCR结果: 血清胆囊收缩素(CCK8): Ta组、Tb组显著低于对照组(C组), Ta低于Tb组(Ta组 vs C组: 5.24 pg/mL \pm 0.56 pg/mL vs 5.24 pg/mL \pm 0.56 pg/mL, $P = 0.000$; Tb组 vs C组: 5.81 pg/mL \pm 0.45 pg/mL vs 6.25 pg/mL \pm 0.53 pg/mL, $P = 0.000$; Ta组 vs Tb组: 5.24 pg/mL \pm 0.56 pg/mL vs 5.81 pg/mL \pm 0.45 pg/mL, $P = 0.001$); 十二指肠组织

中CCK8: Ta组显著低于C组, Ta低于Tb组, Tb组与C组相比差别不明显(Ta组 vs C组: 3.59 \pm 0.20 pg/mL vs 3.59 \pm 0.20 pg/mL, $P = 0.000$; Ta组 vs Tb组: 3.59 pg/mL \pm 0.20 pg/mL vs 3.82 pg/mL \pm 0.16 pg/mL, $P = 0.019$; Tb组 vs C组: 3.82 pg/mL \pm 0.16 pg/mL vs 4.61 pg/mL \pm 0.10 pg/mL, $P = 0.080$); CCK-AR半定量表达: Tb组CCK-AR表达显著低于Ta组、对照组(C组)(Tb组 vs C组: 0.56 \pm 0.21 vs 0.82 \pm 0.16, $P = 0.000$; Tb组 vs Ta组: 0.56 \pm 0.21 vs 0.75 \pm 0.29, $P = 0.000$; C组 vs Ta组: 0.82 \pm 0.16 vs 0.75 \pm 0.29, $P = 0.203$)(表2). CCK-AR表达电泳结果如图1.

3 讨论

航空航天是一特殊领域, 各种飞行因素如低压、低氧、失重等对飞行员及空乘人员的身体健康影响受到密切的关注. 人们进入高原或高空飞行时, 经常会出现腹胀、恶心、食欲不振等消化系症状. 已有研究发现低压、低氧(约海拔5000 m)环境可以抑制胃的排空和肠道推进运动, 减少肠系膜上动脉的血供, 导致血浆及肠道中胃动素、NO、生长抑素等激素水平发生改变, 甚至有研究表明急性低压、低氧会导致Oddi括约肌功能障碍, 而这些生理变化常与缺氧对中枢刺激导致交感系统兴奋有关^[7-10]. 民航客机高空飞行时, 客舱中的气压通常维持于1800-2400 m水平, 一般不会出现明显的缺氧. 这样环境是否会对胆道系统功能造成影响, 目前尚未见报道.

本实验观察到两组家兔在低气压暴露后, 都出现了十二指肠显影时间(DAT)延长、十二指肠组织及血清中CCK8水平下降, 说明客舱中的低气压对胆道动力有抑制作用. 而胆囊高峰摄取时间(T_{max})和胆囊半排时间(T_{1/2})各组间未见明显差异, 可能是由于这两项数据由机器自动记录生成, 最小单位为min, 故敏感度较差, 需大量样本进行观测.

■ 相关报道

已有研究发现低压、低氧(约海拔5000 m)环境可以抑制胃的排空和肠道推进运动, 减少肠系膜上动脉的血供, 导致血浆及肠道中胃动素、NO、生长抑素等激素水平发生改变, 甚至有研究表明急性低压、低氧会导致Oddi括约肌功能障碍, 而这些生理变化常与缺氧对中枢刺激导致交感系统兴奋有关. 民航客机高空飞行时, 客舱中的气压通常维持于1800-2400 m水平, 一般不会出现明显的缺氧. 这样环境是否会对胆道系统功能造成影响, 目前尚未见报道.

■创新盘点

民航客机飞行平稳, 升降压较为缓和, 与战斗机飞行员急速拉高或下降时所处的剧烈变化的飞行环境不同, 一般不会出现急性低血压低氧状态。在这样轻度低气压变化的环境中观察机体胆道系统的变化, 将有助于了解民航客机飞行状态对人体的影响。

表 2 CCK8检测结果及CCK-AR表达 (mean ± SD)

分组	十二指肠组织CCK8(pg/mL)	血清CCK8(pg/mL)	CCK-AR/ β -actin
C组	6.25 ± 0.53	4.61 ± 0.10	0.82 ± 0.16
Ta组	5.24 ± 0.56 ^a	3.59 ± 0.20 ^a	0.75 ± 0.29
Tb组	5.81 ± 0.45 ^c	3.82 ± 0.16 ^{ac}	0.56 ± 0.21 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs C组; ^c $P < 0.05$ vs Ta组。CCK8: 胆囊收缩素; CCK-AR/ β -actin: 胆囊收缩素A受体DNA条带吸光度与 β -actin DNA条带吸光度的比值。

但这种抑制作用机制不明。胆道运动调节是多种因素共同作用的, 与胃肠道机能密切相关^[3,11-14]。胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)是一种广泛分布在消化系统、中枢及外周神经系统的脑肠肽, 其能促进胆囊收缩、Oddi括约肌松弛, 对胃肠、胆道运动具有重要影响^[3,15]。天然CCK有多种分子形式, 以羟基端酰胺化的CCK8和CCK58为主要形式。CCK可能通过4种不同途径发挥作用: (1)外周内分泌作用, 肠道中CCK分泌至血液中作用于组织细胞; (2)外周旁分泌作用, 肠道中CCK作用于局部组织/器官发挥作用; (3)中枢神经内分泌作用, 脑内CCK作用于脑内受体发挥作用; (4)外周神经内分泌作用, CCK作用于外周神经系统发挥作用。餐后特别是脂肪餐后可明显升高血浆中CCK水平。本实验观察到两实验组家兔在低气压暴露后, 出现十二指肠组织及血清中CCK8水平的同步下降, 故推测应当是肠道CCK8生成减少, 导致进入血液的CCK8下降。从海平面上升到2000 m左右, 气体大约会膨胀20%, 胃肠道内含有大量的气体, 这样的膨胀会对胃肠道管壁产生一定张力, 从而产生一系列抑制反射, 导致肠道CCK释放减少, 胆道系统收缩减弱, 胆汁排出变慢, DAT延长。

随着低气压暴露时间的延长, Tb组出现胆囊组织中CCK-AR表达的下降, 这也意味着CCK受体合成减少, 胆囊对CCK敏感性降低, 胆囊收缩减弱。许多研究显示, 胆囊运动功能的损害可导致胆囊结石的发生^[16]。那么, 本实验结果是否提示经常乘坐飞机会增加胆囊结石形成的风险? 但有趣的是本实验还发现低气压暴露7 d后的家兔(Tb组)与低气压暴露3 d后的家兔(Ta组)相比十二指肠显影时间有所缩短($P = 0.041$), 血清及十二指肠组织中CCK8水平有所增加(Ta组 vs Tb组, 血清 $P = 0.000$, 十二指肠组织 $P = 0.019$), 可能提示随着时间的延长, 胆道系统对这种轻度低气压的影响开始适应, 胆道动力功能有所恢

复。随着生活节奏加快, 交通设施的完善, 乘坐飞机已经成为人们一种经常性的选择。因此, 进一步观察这种不伴有缺氧的低气压环境对胆道系统的长期影响是很有意义的。

4 参考文献

- Levett DZ, Martin DS, Wilson MH, Mitchell K, Dhilon S, Rigat F, Montgomery HE, Mythen MG, Grocott MP. Design and conduct of Caudwell Xtreme Everest: an observational cohort study of variation in human adaptation to progressive environmental hypoxia. *BMC Med Res Methodol* 2010; 10: 98 [PMID: 20964858 DOI: 10.1186/1471-2288-10-98]
- Chen YC, Lin FC, Shiao GM, Chang SC. Effect of rapid ascent to high altitude on autonomic cardiovascular modulation. *Am J Med Sci* 2008; 336: 248-253 [PMID: 18794620 DOI: 10.1097/MAJ.0b013e3181629a32]
- Vassiliou MC, Laycock WS. Biliary dyskinesia. *Surg Clin North Am* 2008; 88: 1253-1272, 1253-1272 [PMID: 18992594 DOI: 10.1016/j.suc.2008.07.004]
- Cerçi SS, Ozbek FM, Cerçi C, Baykal B, Eroğlu HE, Baykal Z, Yıldız M, Sağlam S, Yeşilbaş A. Gallbladder function and dynamics of bile flow in asymptomatic gallstone disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2763-2767 [PMID: 19522027 DOI: 10.3748/wjg.15.2763]
- Cakir M, Kayacetin E, Toy H, Bozkurt S. Gallbladder motor function in patients with different thyroid hormone status. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009; 117: 395-399 [PMID: 19373757 DOI: 10.1055/s-0029-1202850]
- 周迈, 郭晏同, 焦岗军, 钟朝晖. 山莨菪碱和加贝酯对胆总管结石术后胆道动力的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2748-2751
- Lu YZ, Wu CC, Huang YC, Huang CY, Yang CY, Lee TC, Chen CF, Yu LC. Neutrophil priming by hypoxic preconditioning protects against epithelial barrier damage and enteric bacterial translocation in intestinal ischemia/reperfusion. *Lab Invest* 2012; 92: 783-796 [PMID: 22370946 DOI: 10.1038/labinvest.2012.11]
- Nikitina AA, Egorova VV, Dmitrieva JV, Bagaeva TR. Immediate and delayed effects of hypobaric hypoxia during early postnatal period on the functioning of digestive enzymes. *Bull Exp Biol Med* 2011; 152: 35-37 [PMID: 22803034 DOI: 10.1007/s10517-011-1447-0]
- Zhou QQ, Yang DZ, Luo YJ, Li SZ, Liu FY, Wang GS. Over-starvation aggravates intestinal injury

- and promotes bacterial and endotoxin translocation under high-altitude hypoxic environment. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1584-1593 [PMID: 21472125 DOI: 10.3748/wjg.v17.i12.1584]
- 10 Fisher EM, Sun X, Erokwu BO, LaManna JC. Hypobaric hypoxia reduces GLUT2 transporter content in rat jejunum more than in ileum. *Adv Exp Med Biol* 2008; 614: 345-352 [PMID: 18290345 DOI: 10.1007/978-0-387-74911-2_38]
- 11 Bastouly M, Arasaki CH, Ferreira JB, Zanoto A, Borges FG, Del Grande JC. Early changes in postprandial gallbladder emptying in morbidly obese patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass: correlation with the occurrence of biliary sludge and gallstones. *Obes Surg* 2009; 19: 22-28 [PMID: 18696168 DOI: 10.1007/s11695-008-9648-y]
- 12 Said K, Edsberg N, Albiin N, Bergquist A. Gallbladder emptying in patients with primary sclerosing cholangitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3498-3503 [PMID: 19630104 DOI: 10.3748/wjg.15.3498]
- 13 Hansel SL, DiBaise JK. Functional gallbladder disorder: gallbladder dyskinesia. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 369-379, x [PMID: 20478492 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.02.002]
- 14 Gründel D, Jüngst C, Straub G, Althaus R, Schneider B, Spelsberg FW, Hüttl TP, del Pozo R, Jüngst D, Neubrand M. Relation of gallbladder motility to viscosity and composition of gallbladder bile in patients with cholesterol gallstones. *Digestion* 2009; 79: 229-234 [PMID: 19390195 DOI: 10.1159/000213828]
- 15 Purhonen AK, Herzig KH, Gabius HJ, André S, Ketterer S, Matzinger D, Beglinger C, Hildebrand P. Duodenal phytohaemagglutinin (red kidney bean lectin) stimulates gallbladder contraction in humans. *Acta Physiol (Oxf)* 2008; 193: 241-247 [PMID: 18248661 DOI: 10.1111/j.1748-1716.2008.01839.x]
- 16 文霞初, 刘晓富, 刘亮. 胆囊结石成因的研究进展. *局解手术学杂志* 2009; 18: 56-57
- 17 张继红, 杨可桢, 韩本立. 胆囊结石形成的动力学机制. *中华普通外科杂志* 2001; 16: 424-426

■同行评价

本文的观点新颖、实验设计、数据统计较严谨, 有进一步的讨论的意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

NAFLD家兔肠道菌群与肠黏膜Toll样受体4的关系

王海昆, 杨涛, 姚萍

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种获得性代谢性应激相关的肝脏疾病,是目前世界上最为普遍的肝脏疾病之一,国内外发病率呈明显上升趋势。NAFLD临床上包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis)和脂肪性肝硬化3种类型,其发生机制尚不明确。

王海昆, 杨涛, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

王海昆, 新疆医科大学在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
作者贡献分布: 此课题由姚萍指导、设计; 研究经费由姚萍提供; 研究过程由杨涛与王海昆完成; 数据分析与论文写作由王海昆完成。

通讯作者: 姚萍, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化科。pingyaozh@sina.com

电话: 0991-4361523

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-17

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Association between intestinal flora and Toll-like receptor 4 in rabbits with nonalcoholic fatty liver disease

Hai-Kun Wang, Tao Yang, Ping Yao

Hai-Kun Wang, Tao Yang, Ping Yao, Department of Digestive Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Professor, Chief Physician, Department of Digestive Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-17

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To explore the alterations in intestinal flora and analyze the association of intestinal flora with intestinal mucosa Toll-like receptor 4 (TLR4) in rabbits with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Fourteen male New Zealand rabbits were randomly divided into two groups: a control group and a NAFLD group. The control group was given a normal diet while the NAFLD group was given a high fat diet. The rabbits were sacrificed 12 weeks later. Immunohistochemical staining was performed to observe the location and expression of TLR4 in ileal tissue. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect the number of *Escherichia coli* (*E. coli*), *bifidobacteria*,

and *lactobacilli* in the ileum. Stepwise multiple linear regression was performed to analyze the relationship between intestinal flora and TLR4.

RESULTS: Compared with the control group, the number of *E. coli* in the NAFLD group increased significantly ($t = -3.492$, $P = 0.008$), but the number of *bifidobacteria* ($t = -1.059$, $P = 0.311$) and *lactobacilli* ($t = -1.848$, $P = 0.089$) had no significant differences between the two groups. The expression of TLR4 was significantly increased ($t = -4.089$, $P < 0.01$) in the NAFLD group. Regression analysis revealed that *E. coli* and *bifidobacteria* were closely related to TLR4 expression ($R^2 = 0.598$, $F = 8.167$, $P = 0.007$). Although the number of *E. coli* had a positive correlation with TLR4 expression (standardized beta = 0.554) and that of *bifidobacteria* had a negative correlation with TLR4 expression (standardized beta = -0.475), the number of *lactobacilli* had no significant correlation with TLR4 expression.

CONCLUSION: Intestinal flora imbalance was observed in rabbits with NAFLD, and it had an obvious influence on the expression of TLR4.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Toll-like receptor 4; *Bifidobacterium*; *Lactobacillus*; *Escherichia coli*

Wang HK, Yang T, Yao P. Association between intestinal flora and Toll-like receptor 4 in rabbits with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3988-3993 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3988.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3988>

摘要

目的: 研究非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)家兔肠道菌群的变化, 并分析菌群与肠黏膜Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)间的关系。

方法: 14只♂新西兰家兔随机分成对照组及

■同行评议者
度必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

模型组, 对照组给以普通饲料, 模型组给以高脂饲料, 喂养12 wk后处死。取肝脏组织行HE染色观察肝脏, 取回肠组织行免疫组织化学观察肠黏膜TLR4的定位及表达, 取肠内容物行实时荧光定量-聚合酶链反应(RT-PCR)检测肠内容物中大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌拷贝数的变化。用多元线性回归分析肠道菌群的改变对肠黏膜TLR4表达的影响。

结果: 与对照组相比, 模型组家兔肠腔中大肠杆菌数量增多($t = -3.492, P = 0.008$), 而乳酸杆菌($t = -1.848, P = 0.089$)、双歧杆菌($t = -1.059, P = 0.311$)数量无明显改变, 肠黏膜TLR4表达升高($t = -4.089, P = 0.002$), 回归分析显示大肠杆菌、双歧杆菌对肠黏膜TLR4表达有明显影响($R^2 = 0.598, F = 8.167, P = 0.007$); 双歧杆菌与TLR4呈负相关(标准化 $\beta = -0.475$), 大肠杆菌与TLR4呈正相关(标准化 $\beta = 0.554$)。而乳酸杆菌与TLR4无明显相关性。

结论: NAFLD家兔存在肠道菌群失调, 且对肠道TLR4的表达有显著影响。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; Toll样受体4; 大肠杆菌; 乳酸杆菌; 双歧杆菌

核心提示: 非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)家兔存在肠道菌群失调, 这与肠黏膜Toll样受体4(Toll-like receptor 4)表达上调有密切关系, 可能对NAFLD发病及进展有一定作用。

王海昆, 杨涛, 姚萍. NAFLD家兔肠道菌群与肠黏膜Toll样受体4的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3988-3993 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3988.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3988>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确肝脏损伤因素所致的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性为病理特征的临床综合征。其疾病谱包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)及与之相关的肝硬化、肝细胞癌^[1]。该病目前在西方人群中患病率约20%-30%, 亚太地区患病率接近12%-24%^[2], 是目前重要的公共健康问题之一。许多研究均指出肠道菌群失调与NAFLD发病有密切的关

系, 肠道中革兰阴性菌代谢产物脂多糖可诱发肠源性内毒素血症, 进而导致胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)。多项动物实验已证实, 脂多糖-Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)-CD14通路参与了IR的形成过程^[3], 而IR在NAFLD发病中的作用已被证实, 本文通过分析NAFLD家兔肠道菌群改变与TLR4之间的关系以探讨肠道菌群对肠道免疫的影响, 进而为研究NAFLD的防治提供一定思路。

1 材料和方法

1.1 材料 体质量1.7-2.0 kg的纯种♂新西兰兔14只(购自新疆医科大学实验动物中心)。普通饲料(新疆维吾尔自治区实验动物中心)、高脂饲料配制方法为基础饲料85%(新疆维吾尔自治区实验动物中心), 猪油8%(市售板油自制), 胆固醇2%(Amresco进口分装), 蛋黄粉5%(Amresco进口分装), QIAamp DNA Stool Mini Kit(QIAamp Germany)试剂盒, 细菌基因组DNA快速提取试剂盒(TIANGEN公司), 琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒(离心柱型)(TIANGEN公司), 2×Taq PCR Master Mix(Biomed公司), 即用型兔抗TLR4多克隆抗体BA1717(武汉博士德), PV6001兔二步法免疫组织化学试剂盒(北京中杉金桥), 标准菌株[大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*), 1.356]、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, 1.1878)、双歧杆菌(*Bifidobacteria longum*, 1.2186)由中国科学院微生物研究所普通微生物菌种保藏管理中心购买的冻干粉, 并在6℃-10℃冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立及取材: 将14只♂新西兰兔适应性喂养2 wk, 观察无异常后随机分为2组, 模型组及正常对照组各7只, 对照组用普通饲料喂养, 模型组用高脂饲料喂养, 整个实验期间均饲养于新疆医科大学动物实验中心兔饲养室, 以笼卡标记, 单笼饲养, 模拟自然光照, 饮水不限, 饲养12 wk后处死。于肝右叶中部切取小块组织, 以10%多聚甲醛固定, 准备行HE染色。取回盲部上端10 cm左右处回肠组织, 10%多聚甲醛固定, 石蜡包埋并切片准备行免疫组织化学, 提取该处肠内粪便3 g置于2 mL无菌离心管内, 用于检测各菌群含量。

1.2.2 观察指标及方法: (1)肝脏组织HE染色: 以40g/L甲醛固定肝脏组织后, 经石蜡包埋、切片, HE染色, 在光镜下观察肝脏病理学改变, 以平均每个肝小叶内脂肪变性的肝细胞所占比例

■ 研发前沿

目前许多研究均证实内毒素在NAFLD的发生、进展过程中发挥了不可忽视的作用, 而肠道菌群是LPS最主要的来源, TLR4作为内毒素的受体在这一过程中亦有重要作用, 研究肠道菌群改变与TLR4的关系将对研究NAFLD发病及治疗有一定的贡献。

■ 相关报道

Abu-Shanab等研究发现NASH组小肠污染综合征的患病率(77.78%)显著高于对照组(31.25%)。有研究显示LPS能明显上调内皮细胞TLR4的表达,并且其作用呈一定的时间和剂量依赖性。Nomura等发现TLR4表达的下调导致LPS耐受性的产生,且LPS耐受程度与TLR4表达下调量之间呈正相关。

表 1 大肠埃希菌基因PCR引物序列

细菌	目的基因	PCR扩增片段长度(bp)	引物序列(5'→3')
大肠埃希菌	16SrDNA	340	F: 5'-GTTAATACCTTTGCTCATTG-3' R: 5'-ACCAGGGTATCTTAATCCTGTT-3'
乳酸杆菌	16SrDNA	341	F: 5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3' R: 5'-CACCGCTACACATGGA-3'
双歧杆菌	16SrDNA	243	F: 5'-TCGCGTCCGGTGTGAAAG-3' R: 5'-CCACATCCAGCATCCAC-3'

表示肝脏脂肪变性程度;(2)免疫组织化学测肠黏膜TLR4: 回肠组织石蜡切片常规脱蜡水化, 3% H_2O_2 孵育10 min, PBS冲洗, 0.01 mol/L枸橼酸抗原修复液, 微波修复(92 °C-98 °C)10 min, PBS冲洗, 兔抗兔多克隆TLR4抗体4 °C过夜, PBS冲洗, 二抗37 °C 30 min, PBS冲洗, DAB显色, 镜下控制显色时间(3-5 min), PBS代替一抗做空白对照。显微镜下观察, 每张切片取5个视野采集图像, 用Image-Pro Plus 6.0软件分析各图像特异性着色区域累计光密度(integral optical density, IA)值;(3)实时荧光定量PCR检测粪便中菌群: 将收集的粪便标本按QIAamp DNA Stool Mini Kit试剂盒的操作说明提取细菌基因组DNA, 置于-20 °C冰箱保存。复活标准菌株(LBS培养基, 37 °C, 3-5 d)并提取标准菌基因组DNA, 根据16SrDNA V3可变区基因序列设计3种菌群特异性引物(由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物序列如表1), 用3种菌群标准菌株基因组DNA与正常对照组粪便细菌基因组DNA进行常规PCR反应以检测引物特异性(反应条件: 94 °C预变性3 min, 94 °C变性30 s, 49.3 °C退火30 s, 72 °C延伸1 min, 共35个循环, 72 °C复性5 min。2.0%琼脂糖凝胶电泳, 110 V 35 min; 反应体系: 20 μ L: 2 \times Taq PCR Master Mix 10 μ L, 上、下游引物10 μ mol/L各0.5 μ L, DNA模板2.0 μ L, ddH₂O 7 μ L), 以3种菌群标准菌株基因组DNA行常规PCR反应(反应体系及条件同上)测定标准菌株基因组DNA浓度及A值作为实时荧光定量PCR反应的标准品, 10倍系列稀释纯化产物, 行SYBR Green I 实时荧光定量PCR反应以获得标注曲线(反应条件95 °C预变性3 min, 95 °C变性10 s, 49.3 °C退火30 s, 65 °C延伸1 min, 共40个循环; 反应体系: 20 μ L: 2 \times SYBR[®] Premix Ex TaqTM 10 μ L, 上下游引物各0.5 μ L, DNA模板2.0 μ L, ddH₂O 7 μ L)。反应完成后以0.5 °C为间隔, 从60 °C加热至95 °C, 每一间隔保持10 s, 获取融解

曲线。将粪便样品中提取的3中菌群DNA行实时荧光定量PCR反应(反应体系与条件同上), 所有样品均做2个平行复孔, 每次实验均设标准品校正和ddH₂O代替DNA样本的阴性对照, 完毕后根据融解曲线分析PCR产物特异性, 系统软件分析结果, 结果以每克湿便的细菌拷贝数的对数(以10为底数)表示。

统计学处理 免疫组织化学及电镜图像采用Image-Pro Plus 6.0软件进行分析, 用SPSS19.0统计软件分析所得数据, 计量资料用mean \pm SD表示, 采用多元线性回归分析大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌与TLR4之间的关系, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏病理学评估 根据中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病组非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)中的组织学诊断标准^[4]评估肝脏病理改变, 正常对照组肝细胞形态正常(图1A)。而NAFLD模型组肝细胞可见广泛脂肪变性及大量气球样改变(图1B)。

2.2 肠道菌群的改变 正常对照组与NASH组家兔肠道大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌及肠黏膜TLR4分析结果如表2。

2.3 肠黏膜TLR4受体表达的变化 模型组阳性染色明显增强, 呈棕褐色信号, 在肠黏膜上皮细胞膜顶端及胞浆均有表达, 呈线性连续性分布(图2A)。而对照组TLR4表达量极低, 主要在肠黏膜上皮细胞膜的顶端间断分布, 呈淡黄色信号(图2B), 而PBS代替一抗的阴性对照组显示非特异性染色主要分布于肠绒毛的血管中(图2C)。

2.4 逐步多元线性回归 以TLR4为应变量, 大肠杆菌(X1)、乳酸杆菌(X2)及双歧杆菌(X3)为自变量, 进入概率为 $\alpha\leq 0.10$, 移出概率为 $\alpha\geq 0.15$ 进行多元线性逐步回归分析, 最终大肠杆菌及双歧杆菌进入回归方程, 所构建的回归方程为Y

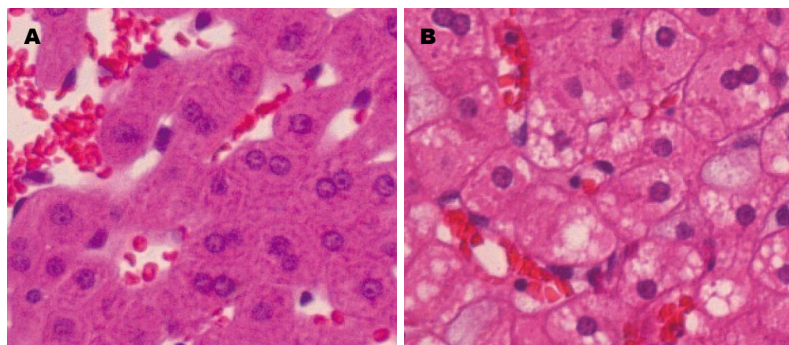


图 1 2组家兔肝脏HE染色图片($\times 400$). A: 对照组; B: 模型组.

■创新盘点
本研究在于探讨NAFLD家兔肠道各菌群的变化对肠黏膜TLR4的影响, 既往尚无相同的报道.

表 2 两组家兔大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌及TLR4的变化 (mean \pm SD)

	正常对照组	NASH组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
双歧杆菌(拷贝数/克湿便)	5933.030 \pm 4400.412	8982.414 \pm 6222.880	-1.059	0.311
乳酸杆菌(拷贝数/克湿便)	2.240 \pm 1.601	5.643 \pm 4.601	1.848	0.089
大肠杆菌(拷贝数/克湿便)	14.299 \pm 11.400	54.767 \pm 28.467	3.492	0.008
TLR4	0.015 \pm 0.010	0.042 \pm 0.014	-4.089	0.002

TLR4: Toll样受体4.

表 3 大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌与TLR4的多元线性回归分析结果

自变量	回归系数 β	标准化 β	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	95.0%CI
常量	0.029		3.761	0.03	0.12-0.45
大肠杆菌	3.443×10^{-4}	0.554	2.871	0.015	8.034×10^{-5} - 6.082×10^{-4}
双歧杆菌	-1.613×10^{-6}	-0.475	-2.462	0.032	-3.055×10^{-6} - -1.709×10^{-7}

TLR4为应变量. $\alpha \leq 0.10$ 进入, $\alpha \geq 0.15$ 移出. TLR4: Toll样受体4.

$= 0.029 + 3.443 \times 10^{-4} \times X_1 - 1.613 \times 10^{-6} \times X_3$, 方程统计检验结果显示: $F = 8.167$, $P = 0.007$; 回归方程有意义. $R^2 = 0.598$, 提示TLR4的变化中有59.8%与大肠杆菌及双歧杆菌有关. 通过分析各自变量的回归系数显示: 大肠杆菌与TLR4呈正相关(标准化 $\beta = 0.554$), 双歧杆菌与TLR4呈负相关(标准化 $\beta = -0.475$)(表3).

3 讨论

人体肠道中存在着数量庞大的菌群, 菌种多达500-1000余种^[5], 大量肠道细菌主要位居于结肠和远端小肠, 在回肠中以厌氧菌如类杆菌属、双歧杆菌、梭杆菌属和消化链球菌属等占主导地位, 含量达到 1×10^9 /g; 而需氧菌和兼性厌氧菌包括肠杆菌、乳酸杆菌数量相对较少, 约有 1×10^6 - 1×10^8 /g^[6]. 当结肠内菌群因各种原因移位至小肠引起小肠内厌氧菌过度增生就会造成小肠污染综合征, Shanab等^[7]的研究发现NASH

组小肠污染综合征的患病率(77.78%)显著高于对照组(31.25%), 给NASH大鼠口服乳果糖或庆大霉素, 其血清转氨酶和肝组织炎症坏死程度可显著减轻^[8,9], 杨林辉等研究发现NAFLD患者存在肠道菌群失调、革兰阴性杆菌过度生长的现象^[10], 这些均提示肠道菌群数量及结构改变与NAFLD发病有密切关系. 我们的研究发现NAFLD家兔肠道内大肠杆菌较正常家兔明显增多, 而双歧杆菌及乳酸杆菌数量无明显改变, 与既往研究结果类似, 说明NAFLD家兔肠道内存在菌群失调及革兰阴性杆菌过度生长.

TLR4是内毒素识别受体, 主要表达于肠黏膜上皮细胞、树突状细胞、巨噬细胞等细胞膜上, 介导固有免疫, 他与内毒素结合后, 通过激活白介素受体相关激酶(interleukin 1 receptor associated kinase, IRAK)、核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)等通路上调肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(in-

■应用要点

本研究NAFLD家兔肠道内大肠杆菌明显增多,而双歧杆菌及乳酸杆菌等无明显改变. 大肠杆菌数与肠黏膜TLR4呈正相关,双歧杆菌与肠黏膜TLR4呈负相关,提示NAFLD家兔存在肠道菌群失调且与TLR4改变关系密切,大肠杆菌等格兰阴性菌增多可能引起肠道内毒素负荷增加,使TLR4表达上调并激活一系列炎症因子促进NAFLD的发生及发展.

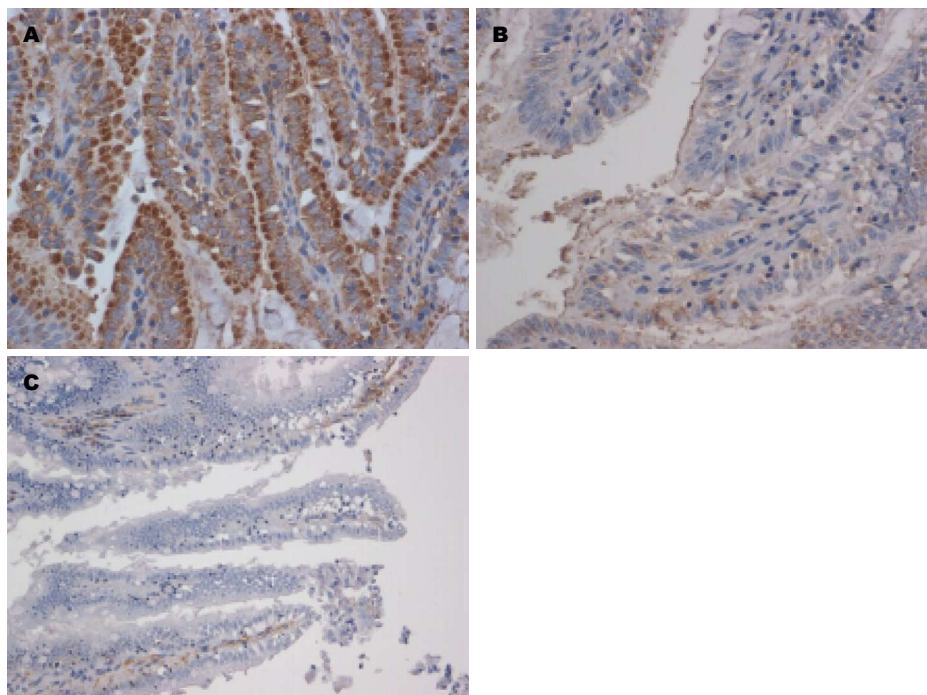


图2 2组家兔肠黏膜TLR-4受体免疫组织化学染色($\times 400$). A: 模型组; B: 对照组; C: PBS代替一抗的阴性对照.

terleukin, IL)-1、IL-6、IL-8、IL-12等细胞因子的表达而引起炎症的发生,与肝脏脂质沉积、炎症损伤及纤维化修复等密切相关. 有研究报道TLR4/MyD88信号通道在高脂饮食相关脂肪性肝病发病早期起关键作用^[11], Tadanobu等^[12]的研究显示NAFLD患者肝脏库普弗细胞TLR4高表达,且与病情进展程度一致. Rivera等^[13]发现TLR4沉默小鼠比野生型小鼠肝脏损害程度减轻,脂质沉积减少,说明TLR4与NAFLD的发病有着密切的关系. 正常人体肠道黏膜TLR4表达水平很低^[14],从而监视着正常状态下的肠道菌群并使得肠道即使存在一定量的内毒素也不会引起疾病,即人体对内毒素的免疫耐受. Nomura等^[15]发现TLR4表达的下调导致LPS耐受性的产生,且LPS耐受程度与TLR4表达下调量之间呈正相关,证明TLR4低表达是产生LPS耐受的关键环节. 我们研究也发现NAFLD组家兔小肠黏膜TLR4表达明显升高,说明NAFLD家兔对内毒素的免疫耐受机制已被破坏.

我们看到NAFLD家兔同时存在着肠道菌群失调及TLR4表达上调,而进一步分析这两者之间的关系,我们发现大肠杆菌与TLR4表达呈正相关,大肠杆菌增多时TLR4表达上调,而双歧杆菌与TLR4表达的关系则相反,我们推测这一现象与内毒素有关. 内毒素是革兰阴性菌细胞壁外膜上的一种脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)与

微量蛋白质的复合物,许多研究证实肝病时会出现肠道菌群微生态失调,革兰阴性菌大量增殖使肠道内毒素明显增加,而大肠杆菌是肠道革兰阴性菌中的优势菌群,其数量增多必然引起肠道中的内毒素增加,而双歧杆菌及乳酸杆菌均为肠道益生菌的代表,他们的存在可以抑制大肠杆菌等菌群的生长、促进肠道内有害物质排出,从而抑制肠道中内毒素增加. TLR4是内毒素的受体,有研究显示LPS能明显上调内皮细胞TLR4的表达,并且其作用呈一定的时间和剂量依赖性^[16],故肠道大肠杆菌增多引起肠道中内毒素增加的同时也使得TLR4的表达表达上调,相反,由于双歧杆菌等益生菌增加则使得TLR4的表达表达下调,这较为合理的解释了我们的研究结果.

但我们同时发现,乳酸杆菌与双歧杆菌同为肠道益生菌,有类似的作用,同样应与TLR4成负相关,而我们的研究中乳酸杆菌与TLR4并未表现出现这样的关系,我们认为这一现象可能是由于实验样本量较少而未能完全反映出他们之间存在的关系,需在以后的研究中增加样本量以进一步研究.

通过该研究,我们发现NAFLD家兔肠道内大肠杆菌数量与TLR4表达呈正相关,而双歧杆菌及乳酸杆菌等益生菌的作用则相反,从统计学角度,可以认为大肠杆菌增加会使TLR4表达

上调, 而益生菌则抑制其表达上调, 这为应用抗生素及益生菌治疗NAFLD提供了一定的理论依据, 但这一结论需要建立肠道菌群失调的模型以进一步研究, 也为今后关于NAFLD发病机制的研究提供了一定的思路。

4 参考文献

- Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: S99-S112 [PMID: 16447287 DOI: 10.1002/hep.20973]
- Farrell GC, Chitturi S, Lau GK, Sollano JD. Guidelines for the assessment and management of non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: executive summary. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 775-777 [PMID: 17565629 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05002.x]
- Holland WL, Bikman BT, Wang LP, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, Knotts TA, Shui G, Clegg DJ, Wenk MR, Pagliassotti MJ, Scherer PE, Summers SA. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 1858-1870 [PMID: 21490391 DOI: 10.1172/JCI43378]
- 范建高. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65 [PMID: 20203603 DOI: 10.1038/nature08821]
- Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 478-485 [PMID: 15173836 DOI: 10.1038/nri1373]
- Shanab AA, Scully P, Crosbie O, Buckley M, O'Mahony L, Shanahan F, Gazareen S, Murphy E, Quigley EM. Small intestinal bacterial overgrowth in nonalcoholic steatohepatitis: association with toll-like receptor 4 expression and plasma levels of interleukin 8. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1524-1534 [PMID: 21046243 DOI: 10.1007/s10620-010-1447-3]
- Fan JG, Xu ZJ, Wang GL. Effect of lactulose on establishment of a rat non-alcoholic steatohepatitis model. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5053-5056 [PMID: 16124065]
- Wu WC, Zhao W, Li S. Small intestinal bacteria overgrowth decreases small intestinal motility in the NASH rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 313-317 [PMID: 18186574 DOI: 10.3748/wjg.14.313]
- 杨林辉, 蔡俊, 陈东风. 非酒精性脂肪性肝炎患者肠道菌群的变化及意义. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 124-126
- Li L, Chen L, Hu L, Liu Y, Sun HY, Tang J, Hou YJ, Chang YX, Tu QQ, Feng GS, Shen F, Wu MC, Wang HY. Nuclear factor high-mobility group box1 mediating the activation of Toll-like receptor 4 signaling in hepatocytes in the early stage of nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Hepatology* 2011; 54: 1620-1630 [PMID: 21809356 DOI: 10.1002/hep.24552]
- Tadanobu N, Naoki T, Takefumi K, Michiharu K, Eiji T. Enhanced expression of toll-like receptor 4 and myd88 is associated with disease progression in human nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2011; 140: s978 [DOI: 10.1016/S0016-5085(11)64050-X]
- Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 571-579 [PMID: 17644211 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.04.019]
- Abreu MT, Vora P, Faure E, Thomas LS, Arnold ET, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 2001; 167: 1609-1616 [PMID: 11466383]
- Nomura F, Akashi S, Sakao Y, Sato S, Kawai T, Matsumoto M, Nakanishi K, Kimoto M, Miyake K, Takeda K, Akira S. Cutting edge: endotoxin tolerance in mouse peritoneal macrophages correlates with down-regulation of surface toll-like receptor 4 expression. *J Immunol* 2000; 164: 3476-3479 [PMID: 10725699]
- 杨清武, 朱佩芳, 王正国, 蒋建新. Toll样受体4介导内毒素对内皮细胞NF- κ B的激活. 生物化学与生物物理进展 2002; 29: 407-410

■同行评价

本文通过建立家兔高脂肪饮食导致的脂肪肝模型, 研究肠黏膜的Toll4受体和肠道一些细菌的变化, 设计合理, 图片翔实, 具有一定学术意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



高渗透压法制备细菌外膜扫描电镜样品

牛小羽, 牛畅, 冯尔玲, 刘先凯, 朱力, 张玫

■背景资料

由细菌、病毒或寄生虫病原体引起的腹泻性疾病是主要的公共健康问题。据世界卫生组织(WHO)统计, 2002年全世界有4.5亿例患腹泻性疾病, 共造成180万例死亡。卫生条件差和污染的饮用水促进了肠道疾病的传播, 营养不良和缺乏适当的医疗条件造成了高死亡率。志贺氏菌属是最常见的引起腹泻的病原菌, 其死亡率高且患者多为5岁以下儿童。不断出现的多重耐药菌株和持续的高发病率意味着志贺氏菌病仍是一个尚未解决的全球性健康问题。

牛小羽, 张玫, 首都医科大学附属宣武医院消化科 北京市 100053

牛畅, 首都师范大学生命科学学院 北京市 100037

牛畅, 冯尔玲, 刘先凯, 朱力, 军事医学科学院生物工程研究所病原微生物生物安全国家重点实验室 北京市 100071

牛小羽, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81171531

国家“973”基金资助项目, No. 2011CB504901

作者贡献分布: 本文研究过程与数据分析由牛小羽、牛畅及冯尔玲完成; 课题设计由刘先凯完成; 朱力与张玫负责审校。

通讯作者: 张玫, 主任医师, 100053, 北京市宣武区长椿街45号, 北京市首都医科大学附属宣武医院消化科。

zhang2955@sina.com

电话: 010-83198348

收稿日期: 2013-08-12 修回日期: 2013-10-04

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-12-18

Preparation of samples for electron microscopy by high osmotic pressure method

Xiao-Yu Niu, Chang Niu, Er-Ling Feng, Xian-Kai Liu, Li Zhu, Mei Zhang

Xiao-Yu Niu, Mei Zhang, Department of Gastroenterology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Chang Niu, College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100037, China

Chang Niu, Er-Ling Feng, Xian-Kai Liu, Li Zhu, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Biotechnology, Beijing 100071, China

Supported by: National Natural Foundation Science of China, No. 81171531; and the State Key Development Program of Basic Research of China, No. 2011CB504901

Correspondence to: Mei Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, 45 Changchun Road, Xuanwu District, Beijing 100053, China. zhang2955@sina.com

Received: 2013-08-12 Revised: 2013-10-04

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To compare different methods for preparation of samples for electron microscopic observation of *Shigella flexneri* surface structures.

METHODS: Three *Shigella flexneri* strains were cultured and used to prepare samples for electron microscopy. Samples were prepared in different osmotic environments. The obtained electron micrographs were compared to obtain the optimal sample preparation conditions.

RESULTS: Hyperosmotic environment in sample preparation often makes cytoplasmic shrinkage occur, which is beneficial for cell surface ultrastructure observation. By comparing the electron microscopic pictures of the three strains of *Shigella flexneri*, we found that the abundance of bacterial lipopolysaccharides (LPS) was less at 37 °C than that at 30 °C.

CONCLUSION: High osmotic pressure sample preparation is better than common methods in observing bacterial cell surface ultrastructures. Using this sample preparation method, electron microscopy analysis revealed that the relative density of LPS of *Shigella flexneri* varied among different culture temperatures.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Biological electron microscopy; *Shigella flexneri*; Lipopolysaccharides

Niu XY, Niu C, Feng EL, Liu XK, Zhu L, Zhang M. Preparation of samples for electron microscopy by high osmotic pressure method. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3994-3998 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3994.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3994>

摘要

目的: 近年来, 电子显微技术在生物学领域得到了广泛的应用。本文利用生物电镜技术对福氏志贺氏菌外膜结构进行了研究, 并对不同制样方法对电镜照片的影响。

方法: 将各志贺氏菌分别在30 °C和37 °C的环境中培养, PCR检测毒力大质粒是否在传代中丢失。培养至稳定期后, 收集菌液, 分别用非高渗和高渗固定液固定, 制备切片, 使用电子显微镜观察细菌外膜结构。

结果: 在高渗透压环境下制样能使细胞质发生皱缩, 有利于对细胞表面超微结构的观察。通过电镜图片对比, 发现在37 °C时, 三株福氏志贺氏菌外膜脂多糖丰度均少于30 °C。

■同行评议者
谭周进, 教授, 湖南中医药大学

结论: 高渗透压方法比普通制样方法更有利于对细菌表面超微结构进行观察. 通过对电镜照片的观察, 可以认为福氏志贺氏菌在不同培养温度下脂多糖的相对密度有所差异.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 生物电镜; 福氏志贺氏菌; 脂多糖

核心提示: 在高渗透压环境下制样能使细胞质发生皱缩, 比普通制样方法更有利于对细菌表面超微结构进行观察. 通过电镜图片对比, 发现在37℃时, 三株福氏志贺氏菌外膜脂多糖丰度均少于30℃. 可以认为福氏志贺氏菌在不同培养温度下脂多糖的相对密度有所差异.

牛小羽, 牛畅, 冯尔玲, 刘先凯, 朱力, 张玫. 高渗透压法制备细菌外膜扫描电镜样品. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3994-3998
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3994.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.3994>

0 引言

由于当前大部分的分子生物学研究是在体外进行的, 而真正的生物学现象发生在个体和细胞内部. 因此, 利用生物电镜技术在细胞水平对生物形态、结构以及功能进行研究, 促进了生物科学研究的发展, 也为电子显微技术开辟了新的天地. 目前, 生物电镜技术已在细胞病理诊断、免疫抗原定位以及胞内基因及其产物定位等方面开展了研究.

志贺氏菌属(*Shigella Spp.*)是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌, 通过III型系统分泌蛋白于人类细胞中, 导致炎症应答. 痢疾持续的高发病率和不断出现的多重耐药菌株意味着志贺氏菌病仍是一个尚未解决的全球性健康问题^[1], 已有研究将生物电镜技术应用于志贺氏菌表面脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)抗原定位^[2]以及III型分泌系统(type three secretion system, T3SS)的形态结构分析^[3]. LPS是革兰氏阴性菌外膜的重要组成部分, 是细菌的一层保护性屏障, 防御外界环境中的不利因素对细菌的杀伤作用^[4]. 志贺氏菌LPS的结构从内到外依次为脂质A(lipid A)、内核(core oligosaccharide)和暴露在细菌表面的O-抗原(O-antigen)多糖链三部分. 其中O-抗原由多个拷贝的寡糖重复单位(repeat unit, RU)聚合而成, 构成了病原菌的一个重要的致病因子^[5-7]. O-抗原连接酶由位于核心寡糖core合成

途径中的相关基因组成的*waa*基因簇中的基因*waaL*编码, 他负责将O-PS连接到脂质A-核心寡糖上形成LPS^[8-10]. 因此, 在志贺氏菌中*waaL*基因的缺失, 会导致LPS合成失败.

本实验室的前期工作揭示了一种全新的福氏志贺氏菌LPS合成的调控机制, 即不同培养温度下LPS合成的相对密度有所差异. 但研究对象仅涉及一株福氏志贺氏菌, 为了验证这一现象是否在不同菌株间存在共性, 本研究利用高渗透压方法对三株福氏志贺氏菌外膜LPS进行了分析.

1 材料和方法

1.1 材料 福氏2a型志贺氏菌2457T、福氏2a型志贺氏菌301、福氏5a型志贺氏菌M90T以及301Δ*waaI*均由本实验室保存. 胰酪胨大豆琼脂(tryptose soya agar, TSA)固体培养基: 4%TSA、0.01%刚果红. LB(Luria-Bertani)培养基: 1%NaCl、1%胰蛋白胨、0.5%酵母提取物. NaI抗生素溶液(30 mg/mL). 固定液A(用于制备非高渗透压样品): 10 mL 40%戊二醛, 用0.1 mol/L PBS缓冲液(pH 7.2)稀释至100 mL. 固定液B(用于制备高渗透压样品): 10 mL 40%戊二醛, 用1 mol/L PBS缓冲液(pH 7.2)稀释至100 mL.

1.2 方法

1.2.1 细菌培养: 将各菌株分别在含有0.01%刚果红的TSA平板上划线30℃培养箱培养24 h, 挑取单克隆接入按照1:1000加入抗生素的5 mL新鲜LB培养基中, 30℃ 220 r/min摇床振荡培养12 h, 转接2次, 并分别用*IpaA*、*IpgB*、*MixD*、*VirG* 4个毒力相关基因的引物进行PCR, 检测毒力大质粒是否在传代中丢失. 验证正确后按1/100的接种量接种于5 mL新鲜LB培养基中, 37℃ 220 r/min摇床振荡培养至稳定期.

1.2.2 样品制备: 收集在不同温度下培养至稳定期的菌液1 mL, 3000 g离心5 min, 0.1 mol/L的PBS缓冲液(pH 7.2)洗1次, 同一温度培养的菌株分别在固定液A或固定液B中室温固定1 h. 固定后样品用0.1 mol/L PBS缓冲液清洗5次, 1%(W/V)的四氧化锇再次固定2 h, 0.1 mol/L PBS缓冲液清洗5次. 样品通过不同浓度梯度酒精(500、750、850及950 mL/L)脱水, 每个浓度15 min, 然后在无水乙醇中洗3次, 每次15 min. 样品包埋在树脂中, 切片后用乙酸双氧铀和枸橼酸铅染色.

1.2.3 电镜观察: 样品在电子显微镜80 kV下观察.

■ 研发前沿

LPS和T3SS功能间的关系就像剑和盾一样, 二者对于志贺氏菌毒力的发挥都是必不可少的. 因此要调整好LPS糖链对病原菌逃避宿主胃部极酸环境和免疫系统伤害的保护作用(盾)与T3SS针状结构的侵袭功能(剑)之间的平衡关系. 近年来, 电子显微技术得到了广泛的应用. 已有研究利用释放细胞内溶物的制样方法, 观察志贺氏菌细胞表面的T3SS以及LPS.

■相关报道

志贺氏菌通过糖基化改变LPS的结构调节T3SS针状结构暴露在膜外的长度,从而促进对靶细胞的侵袭能力,同时若LPS分子太短又无法发挥自身防御的功能,因此LPS的合成受到复杂而精密的调控。O-抗原的长度、分布以及糖基化都与肠道菌抗酸性相关,同时pH值也会影响LPS的长度。已有研究将生物电镜技术应用于志贺氏菌表面LPS抗原定位以及T3SS的形态结构分析。

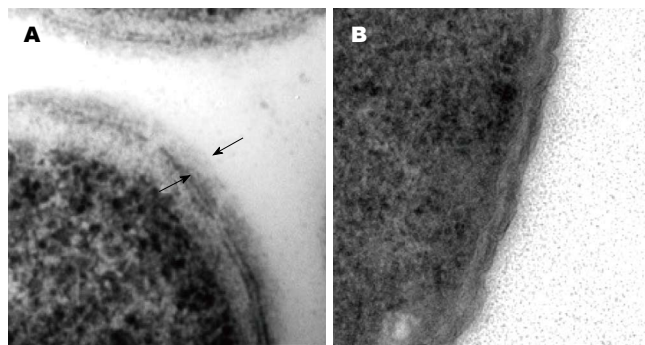


图1 福氏志贺氏菌细胞表面LPS的合成情况。A: 301野生株的LPS合成, 两个箭头间即为菌株LPS层; B: 301 Δ waaI缺失株的LPS合成。LPS: 脂多糖。

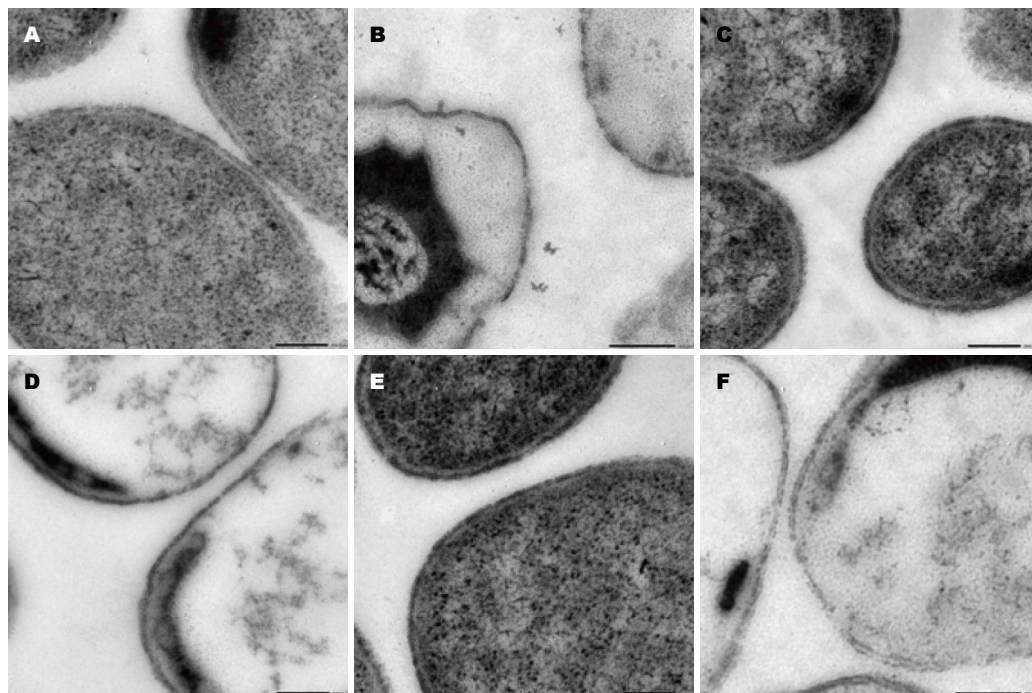


图2 福氏志贺氏菌野生株在非高渗透压和高渗透压环境下制样的区别。A: 2457T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; B: 2457T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; C: 301菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; D: 301菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; E: M90T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; F: M90T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片。

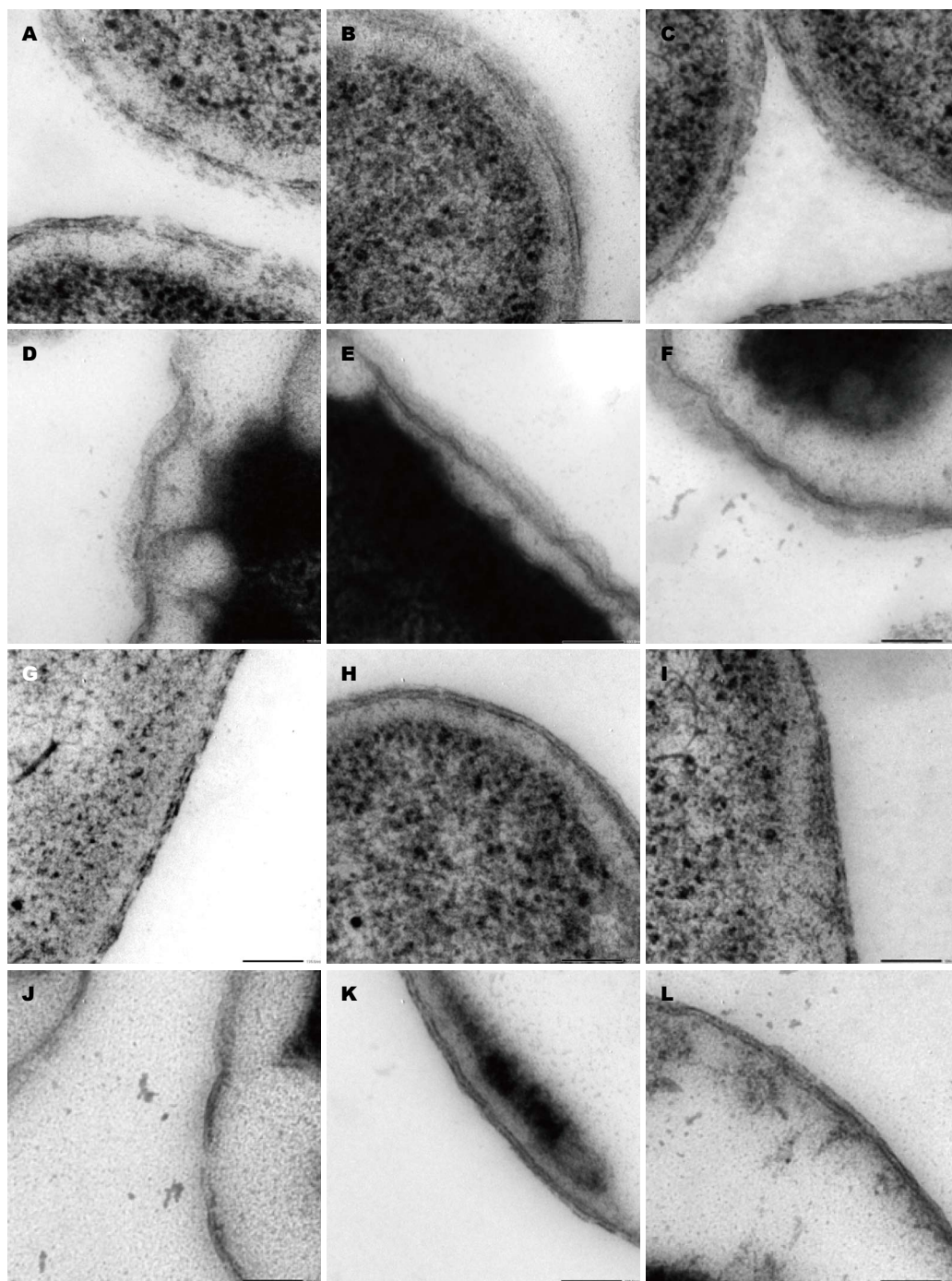
2 结果

2.1 细菌细胞壁表面LPS形态 前面已经介绍缺失waaI基因后301菌株无法合成LPS, 因此我们首先在电镜下观察了301 Δ waaI以及相应的301野生株细胞表面LPS的合成情况。结果与我们预期的一致301 Δ waaI菌株细胞外膜表面是裸露的, 而301野生株细胞壁表面覆盖了绒毛状的一层, 两个箭头间即为菌株LPS层(图1)。

2.2 高渗透压环境下细菌细胞电镜图片 由于LPS和T3SS都位于细胞表面, 为了更清晰的观察细胞表面的超微结构, 我们对生物电镜制样方法进行了改进, 首次在高渗透压环境中制样。我们采用了1 mol/L的PB缓冲液配制戊二醛固定液, 从而形成高渗透压的环境, 使细胞质发生皱缩,

与细胞壁分离开来。同时也用0.1 mol/L的PB缓冲液制备了正常环境条件下的细胞样品作为对照, 观察高渗透压环境是否会对细胞表面结构产生影响。结果如图2所示, 在高渗透压环境下细胞质与细胞壁分离, 更便于观察细胞表面结构。而在非高渗透压环境下细胞质与细胞壁连接在一起, 不能够清晰的辨识细胞表面超微结构, 同时高渗透压环境并未对细胞表面结构产生影响。

2.3 不同培养温度志贺氏菌细胞表面结构变化 已有文献报道, 志贺氏菌在37℃时具有完整的侵袭能力, 而在30℃时不能够侵袭上皮细胞^[1]。从图3高渗透压环境制样照片中可以看出, 30℃培养时, 细胞表面LPS更容易看到。



■创新盘点

我们的研究揭示了一种全新的细菌LPS合成的调控机制,即不同培养温度下LPS合成的相对密度有所差异.同时我们对生物电镜制样方法进行了改进,首次在高渗透压环境中制样,使细胞质发生皱缩与细胞壁分离开来,更便于观察细胞表面结构.

图3 三株福氏志贺氏菌30 °C和37 °C条件下的LPS结构变化. A: 30 °C培养的2457T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; B: 30 °C培养的301菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; C: 30 °C培养的M90T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; D: 30 °C培养的2457T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; E: 30 °C培养的301菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; F: 30 °C培养的M90T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; G: 37 °C培养的2457T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; H: 37 °C培养的301菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; I: 37 °C培养的M90T菌株在非高渗透压环境下制样的透射电镜图片; J: 37 °C培养的2457T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; K: 37 °C培养的301菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片; L: 37 °C培养的M90T菌株在高渗透压环境下制样的透射电镜图片.

3 讨论

为了便于观察志贺氏菌细胞表面的T3SS, 2005年Kenjale等^[3]就采用了释放细胞内容物的方法进行制样. 我们在本文中采用的高渗透压使胞

质皱缩的制样方法与释放内容物的制样方法有异曲同工之妙, 而且省去了释放内容物方法的繁琐步骤, 更为简化有效.

本实验室成功构建的*waaI*缺失突变株银染

■同行评价

本文对高渗透压法制备扫描电镜样品与普通方法制备扫描电镜样品的优越性进行了比较,为细菌外膜的电镜观察提供了一种实用的好制样方法,实验设计正确,分析透彻,书写流畅。

后没有一长串的阶梯状条带,而且缺失突变株不能引起豚鼠角膜炎症反应,表明了LPS的缺失的确影响了志贺氏菌的侵袭能力^[12]。West等^[13]的研究发现,志贺氏菌通过糖基化改变LPS的结构调节T3SS针状结构暴露在膜外的长度,从而促进对靶细胞的侵袭能力,同时若LPS分子太短又无法发挥自身防御的功能,因此LPS的合成受到复杂而精密的调控。Martinić等^[14]也证实了O-抗原的长度、分布以及糖基化都与肠道菌抗酸性相关,同时pH值也会影响LPS的长度。LPS和T3SS功能间的关系就像剑和盾一样,要调整好LPS糖链对病原菌逃避宿主胃部极酸环境和免疫系统伤害的保护作用(盾)与T3SS针状结构的侵袭功能(剑)之间的平衡关系,因为二者对于志贺氏菌毒力的发挥都是必不可少的^[15]。我们的研究揭示了一种全新的细菌LPS合成的调控机制,即不同培养温度下LPS合成的相对密度有所差异。这一现象的一种可能解释是:37℃时T3SS针筒的组装占据了细胞壁上很多空间,因此降低了LPS的表达。同时,通过对普通扫描电镜制样方法的简单改进,我们发现在高渗透压环境下制备样品,细胞质发生皱缩,从而更便于观察细菌细胞表面的LPS。

4 参考文献

- Sansonetti PJ. Shigellosis: an old disease in new clothes? *PLoS Med* 2006; 3: e354 [PMID: 16968125 DOI: 10.1371/journal.pmed.0030354]
- Robinson EN, McGee ZA, Kaplan J, Hammond ME, Larson JK, Buchanan TM, Schoolnik GK. Ultrastructural localization of specific gonococcal macromolecules with antibody-gold sphere immunological probes. *Infect Immun* 1984; 46: 361-366 [PMID: 6150005]
- Kenjale R, Wilson J, Zenk SF, Saurya S, Picking WL, Picking WD, Blocker A. The needle component of the type III secretion of *Shigella* regulates the activity of the secretion apparatus. *J Biol Chem* 2005; 280: 42929-42937 [PMID: 16227202 DOI: 10.1074/jbc.M508377200]
- Trent MS, Stead CM, Tran AX, Hankins JV. Diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *J Endotoxin Res* 2006; 12: 205-223 [PMID: 16953973 DOI: 10.1179/096805106X118825]
- Freudenberg MA, Tchaptchet S, Keck S, Fejer G, Huber M, Schütze N, Beutler B, Galanos C. Lipopolysaccharide sensing an important factor in the innate immune response to Gram-negative bacterial infections: benefits and hazards of LPS hypersensitivity. *Immunobiology* 2008; 213: 193-203 [PMID: 18406367 DOI: 10.1016/j.imbio.2007.11.008]
- Beutler B. LPS in microbial pathogenesis: promise and fulfilment. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 329-335 [PMID: 12537691 DOI: 10.1179/096805102125000650]
- Hug I, Feldman MF. Analogies and homologies in lipopolysaccharide and glycoprotein biosynthesis in bacteria. *Glycobiology* 2011; 21: 138-151 [PMID: 20871101 DOI: 10.1093/glycob/cwq148]
- Feldman MF, Wacker M, Hernandez M, Hitchen PG, Marolda CL, Kowarik M, Morris HR, Dell A, Valvano MA, Aebi M. Engineering N-linked protein glycosylation with diverse O antigen lipopolysaccharide structures in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3016-3021 [PMID: 15703289 DOI: 10.1073/pnas.0500044102]
- Wacker M, Feldman MF, Calleeaert N, Kowarik M, Clarke BR, Pohl NL, Hernandez M, Vines ED, Valvano MA, Whitfield C, Aebi M. Substrate specificity of bacterial oligosaccharyltransferase suggests a common transfer mechanism for the bacterial and eukaryotic systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 7088-7093 [PMID: 16641107 DOI: 10.1073/pnas.0509207103]
- Whitfield C, Amor PA, Köplin R. Modulation of the surface architecture of gram-negative bacteria by the action of surface polymer: lipid A-core ligase and by determinants of polymer chain length. *Mol Microbiol* 1997; 23: 629-638 [PMID: 9157235]
- Zhu L, Zhao G, Stein R, Zheng X, Hu W, Shang N, Bu X, Liu X, Wang J, Feng E, Wang B, Zhang X, Ye Q, Huang P, Zeng M, Wang H. The proteome of *Shigella flexneri* 2a 2457T grown at 30 and 37 degrees C. *Mol Cell Proteomics* 2010; 9: 1209-1220 [PMID: 20164057 DOI: 10.1074/mcp.M900446-MCP200]
- 宋丽. 福氏2a志贺氏菌waaI和rfbA基因功能的研究. 南昌大学, 2012
- West NP, Sansonetti P, Mounier J, Exley RM, Parsot C, Guadagnini S, Prévost MC, Prochnicka-Chalufour A, Delepierre M, Tanguy M, Tang CM. Optimization of virulence functions through glucosylation of *Shigella* LPS. *Science* 2005; 307: 1313-1317 [PMID: 15731456 DOI: 10.1126/science.1108472]
- Martinić M, Hoare A, Contreras I, Alvarez SA. Contribution of the lipopolysaccharide to resistance of *Shigella flexneri* 2a to extreme acidity. *PLoS One* 2011; 6: e25557 [PMID: 21984920 DOI: 10.1371/journal.pone.0025557]
- Martinez-Argudo I, Blocker AJ. The *Shigella* T3SS needle transmits a signal for MxiC release, which controls secretion of effectors. *Mol Microbiol* 2010; 78: 1365-1378 [PMID: 21143311 DOI: 10.1111/journal.1365-2958.2010.07413.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



自身免疫性肝炎患者血清学指标与肝活检病理的关系

郑 聪, 褚燕君, 张芳宾, 李 娅, 孙 静

郑聪, 褚燕君, 张芳宾, 李娅, 孙静, 郑州大学第一附属医院
消化内科 河南省郑州市 450052

郑聪, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由褚燕君与郑聪设计; 病例收集过程由郑聪与孙静共同完成; 数据分析与处理由郑聪、张芳宾及李娅共同完成; 本论文写作由褚燕君、郑聪、张芳宾、李娅及孙静共同完成。

通讯作者: 褚燕君, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

1054900885@qq.com

电话: 0371-66862082

收稿日期: 2013-08-29 修回日期: 2013-10-12

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-18

Correlation between serum indexes and hepatic biopsy histopathology in patients with autoimmune hepatitis

Cong Zheng, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Ya Li, Jing Sun

Cong Zheng, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Ya Li, Jing Sun, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Yan-Jun Chu, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe West Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. 1054900885@qq.com

Received: 2013-08-29 Revised: 2013-10-12

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To explore the correlation of serum indexes with the degree of hepatic inflammation and fibrosis in patients with autoimmune hepatitis (AIH).

METHODS: Routine pathological examination of liver biopsies was performed in 146 patients with AIH) from 2003 to 2013, and serum liver function and coagulation function indexes were also recorded in these patients. The correlations between serum indexes and hepatic biopsy histopathology were assessed.

RESULTS: Serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, direct bili-

rubin and activated partial thromboplastin time were positively correlated with inflammatory grade [correlation coefficient (r) = 0.232, 0.245, 0.204, 0.255, 0.241 and 0.236, all $P < 0.05$], and serum albumin and albumin-globulin ratio were negatively correlated with inflammatory grade (r = -0.245 and -0.187, both $P < 0.05$). Serum alkaline phosphatase, total bilirubin, globulin, direct bilirubin, prothrombin time and activated partial thromboplastin time were positively correlated with fibrosis stage (r = 0.224, 0.184, 0.419, 0.197, 0.290 and 0.382, all $P < 0.05$), and serum albumin and albumin-globulin ratio were negatively correlated with fibrosis stage (r = -0.387 and -0.526, both $P < 0.05$). The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn between the above indicators and inflammation grade and fibrosis stage in patients with AIH. The area under the curve (AUC) of serum albumin and albumin-globulin ratio in S0 stage disease were 0.75 and 0.809, and the remaining indications had an AUC value < 0.7 .

CONCLUSION: Serum indexes have limited but appreciated value in estimating inflammatory grade and fibrosis stage in patients with AIH.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; Serum indexes; Liver biopsy

Zheng C, Chu YJ, Zhang FB, Li Y, Sun J. Correlation between serum indexes and hepatic biopsy histopathology in patients with autoimmune hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 3999-4005 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3999.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3999>

摘要

目的: 探讨自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者肝组织炎症分级和纤维化分期相关的血清学指标。

方法: 收集2003-04/2013-03在我院行肝穿刺活检的146例AIH患者的血清学指标与肝组织活

■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)临床表现及诊断复杂, 肝活检在临床应用较局限, 作者试图通过本研究找到有助于判定肝脏组织病理分级分期的血清学指标。

■同行评议者

胡国信, 主任医师, 副教授, 南昌大学第一附属医院传染科

■ 研发前沿

目前国内外很多专家学者正致力于无创性肝纤维化诊断模型的研究,并已建立多个肝纤维化非创伤性综合指标诊断模型,而对AIH患者血清学指标与肝组织炎症及纤维化程度关系的分析的研究尚未见报道。

检病理资料,分析其血清学指标与肝组织分期分级的相关性。

结果:血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, γ -GT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)和部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)随肝脏炎症程度的加重而增高[相关系数(r)分别为0.232、0.245、0.204、0.255、0.241和0.236, P 均 <0.05],血清白蛋白(albumin, ALB)与白蛋白/球蛋白(albumin-globulin ratio, A/G)随肝脏炎症程度的加重而降低(r 分别为-0.245和-0.187, P 均 <0.05)。血清碱性磷酸酶、总蛋白、球蛋白、DBIL、凝血酶原时间、部分凝血活酶时间随肝脏纤维化程度加重而增高(r 分别为0.224、0.184、0.419、0.197、0.290和0.382, P 均 <0.05), ALB和A/G随肝脏纤维化程度的加重而降低(r 分别为-0.387和-0.526, P 均 <0.05)。分别将上述指标与AIH患者肝脏炎症分级和纤维化分期绘制ROC曲线, ALB和A/G在S0期受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.755和0.809, 其余各项指标与肝脏炎症分级和纤维化分期绘制的AUC均 <0.7 。

结论:血清学指标有助于判定AIH患者肝脏组织病理的分期和分级,但存在较大局限性。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性肝炎; 血清学指标; 肝活检

核心提示: 本研究发现,对自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者在无法行肝穿刺病理时,密切监测血清学指标在一定程度上有助于判断疾病的进展,但要确诊AIH患者肝组织炎症分级及纤维化分期,从而选择合理的治疗方案,肝活检是必不可少的。

郑璐, 褚燕君, 张芳宾, 李娅, 孙静. 自身免疫性肝炎患者血清学指标与肝活检病理的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 3999-4005 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3999.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.3999>

0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫反应介导的慢性进行性肝脏炎症

性疾病,女性易患,以不同程度的血清转氨酶升高、高 γ -球蛋白、自身抗体阳性、肝组织学特征性改变和对免疫抑制治疗应答为特点。本研究通过分析146例AIH患者肝功能、凝血功能各项指标与肝脏组织炎症分级和纤维化分期的关系,以期找到有助于判定肝脏组织炎症分级和纤维化分期的血清学指标。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2003-04/2013-03郑州大学第一附属医院确诊为AIH并接受肝穿刺活检患者,诊断标准依据国际自身免疫性肝炎小组(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)传统评分系统进行积分诊断^[1],总分在治疗前超过15分、治疗后超过17分为确定诊断的AIH,治疗前10-15分、治疗后12-17分为可能的AIH。剔除标准: (1)合并有大量饮酒(男 >40 g/d, 女 >20 g/d); (2)高血脂; (3)服用可引起肝功能损伤药物者; (4)合并遗传性代谢性肝病者; (5)肝炎病毒标记物阳性; (6)合并其他自身免疫性疾病者; (7)临床资料不全者。

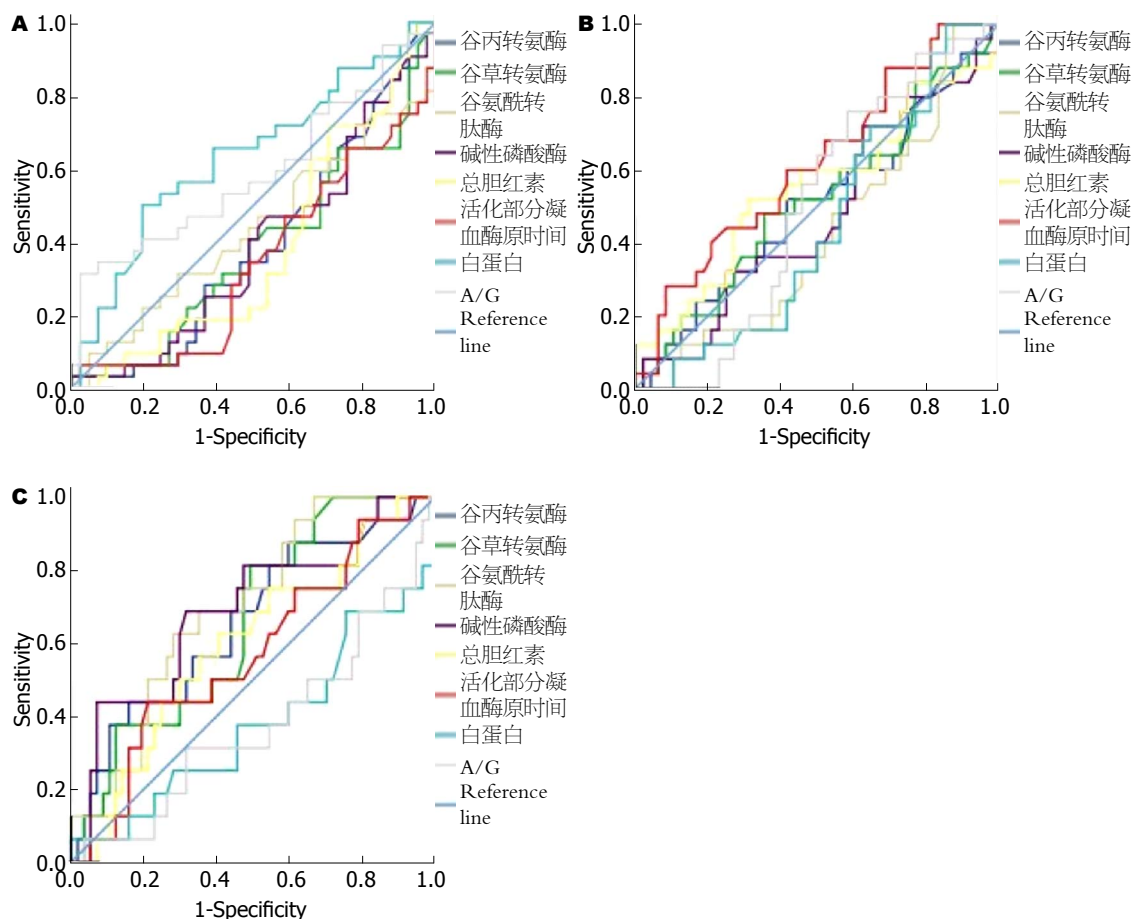
1.2 方法 登记患者性别、年龄、肝穿刺同期肝功能及凝血功能相关指标。分别由本院2位病理科医师对患者病理切片进行复片,按照慢性肝炎分期分级标准将标本分为G0-G4级和S0-S4期^[2]。

统计学处理 采用SPSS17.0软件对数据进行统计分析,符合正态分布的变量以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,非正态分布变量以中位数(最低值-最高值)表示,等级资料间的比较采用Spearman秩相关分析,多组均数间的比较采用方差分析,非正态分布数据转换为正态分布后行方差分析、无法转换为正态分布时行非参数检验,同时对各有意义指标在各分期分级行ROC曲线(receiver operating characteristic curve)分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象 共有收集351例AIH患者,146例接受了肝穿刺活检。其中,男性27例,女性119例,年龄12-75岁,平均年龄 47.48 ± 15.75 岁。

2.2 血清学指标与肝组织病理炎症分级 血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, γ -GT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)和部



■ 相关报道

目前国内外很多专家已建立多个肝纤维化非创伤性综合指标诊断模型, 如Imbert-Bismut等的FT和AT指标, Wai等的PRI模型, Patel等的FibroSpect II模型等。

图1 血清学相关指标对AIH患者肝脏炎症各级诊断的ROC曲线。A: G0+1期; B: G2期; C: G3+4期。ROC曲线下面积(area under curve, AUC)<0.5时, 对AIH诊断无意义; AUC为0.5~0.7时, 诊断准确性较低; AUC为0.7~0.9时, 诊断准确性中等; AUC>0.9时, 表示诊断准确性高。

分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)随肝脏炎症程度的加重而增高[相关系数(r)分别为0.232、0.245、0.204、0.255、0.241和0.236, P 值分别为0.005、0.003、0.013、0.002、0.003和0.004], 血清白蛋白(albumin, ALB)与白蛋白/球蛋白(albumin-globulin ratio, A/G)随肝脏炎症程度的加重而降低(r 分别为-0.245和-0.187, P 值分别为0.003和0.024)。而血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)、间接胆红素(indirect bilirubin, IDBL)、总蛋白(total protein, TP)、球蛋白(globulin, GLB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)和纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)与肝脏炎症程度无显著相关性(表1)。

进一步分析显示血清ALT、AST、 γ -GT、ALP、DBIL和APTT在肝脏组织炎症分级为G3+4组患者的中位值均显著高于G0+1组(P 分别为0.003、0.003、0.002、0.002、0.007和0.020); 血清ALT、 γ -GT和ALP在G3+4组患者中的中

位值均显著高于G2组(P 分别为0.040、0.003和0.026); DBIL和APTT在G2组患者中的中位值均显著高于G0+1组(P 分别为0.019和0.003)。而ALB与A/G在G3+4组患者中的中位值显著低于G0+1组患者(P 值分别为0.033和0.040)(表1)。

分别将上述指标与AIH患者肝脏各级炎症绘制ROC曲线, 曲线下面积(AUC)均<0.7(图1)。

2.3 自身免疫性肝炎血清学指标与肝组织病理纤维化分期的关系 血清ALP、TP、GLB、DBIL、PT和APTT随肝脏纤维化程度加重而增高(r 分别为0.224、0.184、0.419、0.197、0.290和0.382, P 分别为0.006、0.026、0.000、0.017、0.000和0.000), 血清ALB、A/G随肝脏纤维化程度加重而降低(r 分别为-0.387和-0.526, P 分别为0.000和0.000)。而血清ALT、AST、 γ -GT、TBIL、IBIL、PTA和FIB与肝脏纤维化程度无显著相关性(表2)。

进一步分析显示, 血清ALP、TP、DBIL、PT和APTT在肝脏纤维化分期为S2、S3和S4期

■ 创新盘点

本文对AIH患者血清学指标与肝组织炎症及纤维化程度关系的研究,以期通过临床最常见的血清学指标评价AIH患者肝脏炎症及纤维化程度。

表1 血清学指标与肝脏炎症分级的结果比较

分级	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	γ-GT(U/L)	ALP(U/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLB(g/L)	A/G	TBL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	IBIL(μmol/L)	PT(s)	PTA(%)	APTT(s)	FIB(g/L)
G0+1	64	59.5 (9.0-1585.0)	63.0 (16.0-1317.0)	78.0 (8.0-670.0)	108.0 (44.0-903.0)	76.3 (57.0-110.4)	40.5 (27.8-47.5)	37.5 (23.4-82.4)	1.13±0.39	13.6 (6.3-193.3)	5.5 (2.0-108.0)	9.0 (3.4-35.0)	13.3 (10.1-17.7)	94.0 (60.0-150.0)	37.2 (22.5-58.5)	2.8 (1.5-6.1)
G2	50	91.0 (6.0-806.0)	94.0 (17.0-760.0)	88.0 (19.0-538.0)	114.0 (45.0-616.0)	73.9 (56.9-106.1)	37.1 (29.7-45.6)	34.7 (25.8-70.4)	1.02±0.20	24.2 (4.0-390.4)	8.5 (1.2-270.9) ^a	14.4 (1.9-119.5)	13.1 (10.6-16.0)	91.2 (65.8-150.0)	38.5 (28.4-59.1) ^a	2.7 (1.7-5.5)
G3+4	32	116.5 (10.0-1051.0) ^{bc}	91.0 (34.0-600.0) ^a	166.5 (42.0-911.0) ^{bc}	151.5 (68.0-400.0) ^{bc}	76.2 (61.6-89.7)	34.9 (23.1-51.4) ^a	38.4 (27.6-56.5)	0.94±0.33 ^a	25.1 (7.4-173.8)	8.8 (2.2-137.0) ^a	12.8 (2.5-39.4)	13.3 (11.7-20.1)	97.0 (48.0-129.0)	38.7 (25.6-52.2) ^a	2.8 (1.3-4.0)
F值		4.48	4.678	8.3	5.178	0.61	3.565	1.481	3.356	2.356	4.785	-	-	-	-	-
P值		0.013	0.011	0.001	0.007	0.545	0.033	0.233	0.04	0.099	0.01	0.075	0.262	0.965	0.005	0.55

^a $P<0.05$ vs G0+1组; ^b $P<0.05$ vs G2组; 因G0、G4组例数少,将G0与G1合并, G4与G3合并; 行非参数分析时无F值以-表示。ALT: 血清谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; γ-GT: 谷氨酰转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶; IBIL: 间接胆红素; TP: 总蛋白; ALB: 白蛋白; GLB: 球蛋白; A/G: 白蛋白/球蛋白; TBL: 血清总胆红素; DBIL: 直接胆红素; PT: 凝血酶原时间; PTA: 凝血酶原活动度; APTT: 部分凝血活酶时间; FIB: 纤维蛋白原。

的患者中的中位值均显著高于纤维化分期S0和S1期(P 均 <0.05); 血清ALB在纤维化分期S2、S3和S4期患者中的中位值均显著低于S0和S1期患者(P 均 <0.000); 血清GLB在肝脏纤维化分期为S1、S2、S3和S4期的患者中的中位值均显著高于纤维化分期S0期(P 分别为0.003、0.001、0.000和0.000), 在纤维化分期为S4期患者中位值显著高于S1期($P=0.003$); 血清A/G在肝脏纤维化分期为S1、S2、S3和S4期的患者的中位值均显著低于纤维化分期S0期($P=0.000$ 、0.046、0.000和0.000), 在纤维化分期为S4期患者中位值显著低于S1期($P=0.010$)(表2)。

分别将上述指标与AIH患者肝脏纤维化分期绘制ROC曲线, ALB和A/G在S0期AUC分别为0.755和0.809(P 均 <0.000)。95%置信区间分别为(0.665-0.845)和(0.733-0.884), 提示ALB和A/G对S0期AIH患者诊断价值较高。根据ROC曲线得出ALB和A/G分别为40.05和1.27 g/L时Youden指数最高, 可作为S0期的诊断指标, 判定S0期的敏感度分别为71.4%和57.1%, 特异度分别为76.9%和94.2%。其余各项指标与肝脏纤维化分期绘制的ROC下面积均 <0.7 (图2)。

3 讨论

肝纤维化是肝脏在对损伤慢性修复过程中细胞外基质过度增生与异常沉积所致肝脏结构和肝功能异常改变的一种病理过程。反复的肝组织炎症活动导致并加重肝纤维化的形成。

AIH临床表现及诊断复杂, 有时因难以判断病情而延误治疗。肝组织病理学检查是诊断AIH的必备条件^[3,4], 但由于肝活检创伤性较大、患者依从性差以及取样误差等问题, 其临床应用受到限制^[5]。鉴于肝活检在临床上推广与应用的局限性, 目前国内外很多专家学者正致力于无创性肝纤维化诊断模型的研究, 并已建立多个肝

表 2 血清学指标与肝脏纤维化分期的结果比较

分期	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	γ-GT(U/L)	ALP(U/L)	IBIL(μmol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLB(g/L)	A/G	TBL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	PT(s)	PTA(%)	APTT(s)	FIB(g/L)
S0	42	66.0 (9.0-1585.0)	63.0 (16.0-474.0)	74.0 (8.0-670.0)	103.0 (44.0-903.0)	9.0 (1.9-119.5)	74.6 (59.1-85.9)	41.3 (30.9-47.5)	30.1 (23.4-45.6)	1.31 ± 0.33	13.0 (4.7-390.4)	4.3 (2.2-270.9)	12.6 (11.1-14.8)	94.7 (76.0-150.0)	37.2 (22.5-41.2)	2.8 (1.4-6.1)
S1	50	91.0 (6.0-806.0)	84.0 (20.0-1317.0)	113.0 (10.0-771.0)	112.0 (58.0-616.0)	11.0 (2.1-33)	72.7 (60.6-90.7)	38.1 (29.3-41.7)	36.3 (26.2-51.9) ^a	1.00 ± 0.19 ^a	17.1 (4.0-233.4)	6.9 (1.9-217.7)	13.3 (10.1-17.7)	94.0 (60.0-150.0)	37.2 (25.5-58.5)	2.7 (1.5-5.5)
S2	20	90.5 (8.0-215.0)	101.5 (17.0-298.0)	115.5 (19.0-290.0)	120.5 (45.0-175.0) ^{ab}	7.0 (2.5-35)	78.5 (56.9-95.2) ^{ac}	37.6 (23.1-45.6) ^{ac}	40.1 (25.8-56.5) ^a	0.94 ± 0.24 ^a	12.3 (6.8-193.3)	6.0 (1.2-108.8) ^{ac}	13.3 (11.9-16.0) ^{ac}	87.5 (69.0-123.0)	43.5 (26.5-48.3) ^{ac}	2.2 (2.0-4.6)
S3	16	103.0 (25.0-1051.0)	87.5 (32.0-600.0)	104.0 (35.0-297.0)	169.5 (61.0-344.0) ^{ab}	16.0 (5.0-39.4)	76.2 (72.9-106.1) ^{ac}	37.4 (26.8-51.4) ^{ac}	38.0 (29.4-70.4) ^a	0.96 ± 0.42 ^a	26.5 (9.0-120.9)	10.3 (2.2-81.5) ^{ac}	14.1 (12.0-17.5) ^{ac}	86.5 (57.0-124.0)	41.2 (33.6-52.2) ^{ac}	2.8 (1.3-3.7)
S4	18	66.0 (26.0-283.0)	84.0 (33.0-361.0)	138.0 (60.0-911.0)	205.0 (72.0-336.0) ^{ab}	9.0 (2.7-37.0)	78.5 (61.6-110.4) ^{ac}	34.5 (24.4-41.6) ^{ac}	43.3 (32.9-82.4) ^{ac}	0.77 ± 0.24 ^{ac}	16.9 (6.3-173.8)	6.4 (2.9-137) ^{ac}	13.8 (11.7-20.1) ^{ac}	94.0 (48.0-129.0)	41.7 (34.7-59.1) ^{ac}	3.2 (1.4-4.8)
F值		1.04	2.352	2.349	-	-	-	-	8.518	13.105	-	-	5.375	1.536	-	-
P值		0.389	0.057	0.065	0.009	0.376	0.029	0	0	0	0.112	0.016	0.001	0.195	0	0.653

^aP<0.05 vs S0组; ^bP<0.05 vs S1组; 行非参数分析时无F值以-表示; ALT: 血清谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; γ-GT: 谷氨酰转酞酶; ALP: 碱性磷酸酶; IBIL: 间接胆红素; TP: 总蛋白; ALB: 白蛋白; GLB: 球蛋白; A/G: 白蛋白/球蛋白; TBL: 总胆红素; 血清总胆红素; DBIL: 直接胆红素; PT: 凝血酶原时间; PTA: 凝血酶原活动度; APTT: 部分凝血活酶时间; FIB: 纤维蛋白原。

纤维化非创伤性综合指标诊断模型,主要的预测模型有FT和AT指标^[6],PRI模型^[7]、FibroSpect II模型^[8]、欧洲肝纤维化组(European Liver Fibrosis Group, ELFG)模型^[9]、上海肝纤维化组(SLFG)模型^[10]、FibroIndex模型^[11]等,上述模型对于AIH患者诊断的准确率、灵敏度和特异度还有待于深入研究。而对AIH患者血清学指标与肝组织炎症及纤维化程度关系的分析的研究尚未见报道。作者试图通过本研究找到有助于判定肝组织病理分期血清学指标,作为AIH患者肝脏炎症及纤维化的早期预测、判断疾病进展及评估疗效的参考。

本研究结果显示,在血清学的各项指标中,ALT、AST、γ-GT、ALP、A/G和APTT有助于判断AIH患者肝脏炎症程度,ALP、TP、ALB、GLB、A/G、DBIL、PT和APTT对纤维化进展有评估作用,同时对于AIH患者,当ALB<40.05 g/L和A/G<1.27时应注意早期肝硬化化的发生,需及时行抗纤维化治疗,延缓和阻断肝硬化进程。本研究也发现上述指标对炎症分级及纤维化分期谱的两极辨别作用较好,而对中等程度的炎症及纤维化鉴别能力欠佳,并不能进行精确的分级和分期,这与Bissell的对肝纤维化的研究一致^[12]。同时,通过对肝组织病理分期ROC曲线分析可见,只有ALB和A/G对S0期AIH患者诊断价值较高(AUC>0.7),其余各指标对分期分级的诊断价值较低(AUC<0.7)。基于此,我们认为上述血清学指标对AIH患者肝组织炎症分期及纤维化分期的评估有一定的意义,但仍存在较大局限性。这与一些学者对慢性乙型肝炎的研究一致^[13-15]。

应用要点
监测血清学指标在一定程度上有助于判断AIH患者疾病的进展,但肝活检仍是必不可少的。

■同行评价

本文对临床有一定的指导意义, 是一篇较好论文。

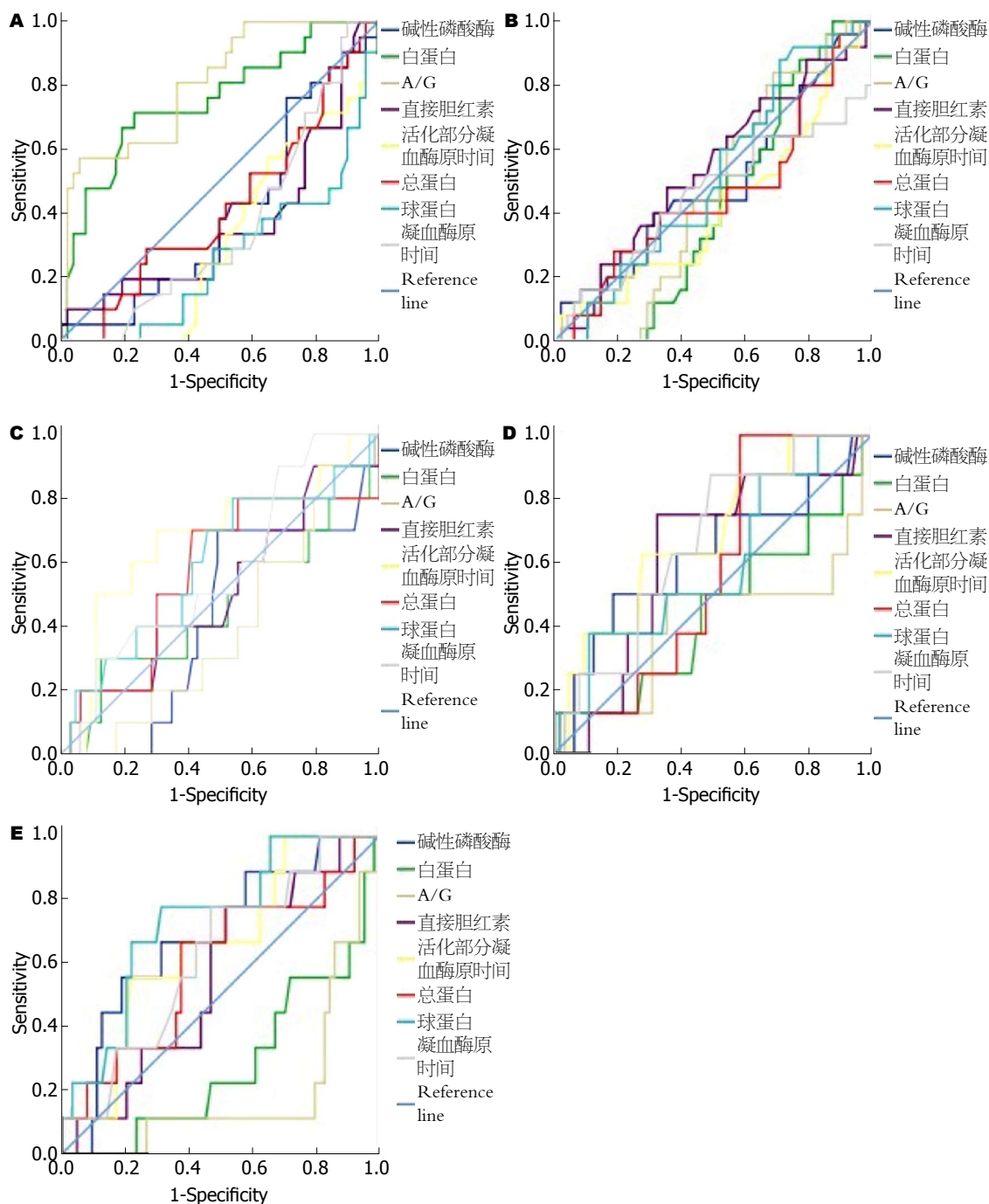


图2 血清学相关指标对AIH患者肝脏纤维化各期诊断的ROC曲线。A: S0期; B: S1期; C: S2期; D: S3期; E: S4期。ROC曲线下面积(AUC)<0.5时, 对AIH诊断无意义; AUC为0.5~0.7时, 诊断准确性较低; AUC为0.7~0.9时, 诊断准确性中等; AUC>0.9时, 表示诊断准确性高。

总之, 我们认为, 对AIH患者在无法行肝穿病理时, 密切监测血清学指标在一定程度上有助于判断疾病的进展, 但要确诊AIH患者肝组织炎症分级及纤维化分期, 从而选择合理的治疗方案, 肝活检是必不可少的。

4 参考文献

- Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley

WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Edleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Büschenfelde KH, Zeniya M. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938 [PMID: 10580593 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80297-9]

- 中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001; 19: 56-62
- Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: Inter-

- national Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993; 18: 998-1005 [PMID: 8406375 DOI: 10.1002/hep.1840180435]
- 4 Czaja AJ. The variant forms of autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med* 1996; 125: 588-598 [PMID: 8815758 DOI: 10.7326/0003-4819-125-7-199610010-00009]
- 5 赵洪昌. 慢乙肝患者血清学标志物与肝纤维化的关系. *中国实验诊断学* 2010; 14: 2021-2022
- 6 Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001; 357: 1069-1075 [PMID: 11297957 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04258-6]
- 7 Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518-526 [PMID: 12883497 DOI: 10.1053/jhep.2003.50346]
- 8 Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hézode C, Oh E, Smith KM, Pawlotsky JM, McHutchison JG. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004; 41: 935-942 [PMID: 15582126 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.008]
- 9 Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1704-1713 [PMID: 15578508]
- 10 Zeng MD, Lu LG, Mao YM, Qiu DK, Li JQ, Wan MB, Chen CW, Wang JY, Cai X, Gao CF, Zhou XQ. Prediction of significant fibrosis in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B by a noninvasive model. *Hepatology* 2005; 42: 1437-1445 [PMID: 16317674 DOI: 10.1002/hep.20960]
- 11 Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007; 45: 297-306 [PMID: 17256741 DOI: 10.1002/hep.21520]
- 12 Bissell DM. Assessing fibrosis without a liver biopsy: are we there yet? *Gastroenterology* 2004; 127: 1847-1849 [PMID: 15578524]
- 13 何伶俐, 雷学忠, 陈竹, 陈恩强, 徐辉. 慢性乙型肝炎患者肝穿病理与临床指标的关系. *华西医学* 2010; 25: 474-478
- 14 Lai M, Hyatt BJ, Nasser I, Curry M, Afdhal NH. The clinical significance of persistently normal ALT in chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2007; 47: 760-767 [PMID: 17928090 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.07.022]
- 15 马科, 丁红方, 黄加权, 宁琴. 慢性乙型肝炎患者肝组织病理研究. *内科急危重症杂志* 2012; 18: 156-158

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



自身免疫性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群的异常表达

肖锐, 陈楠, 方维丽, 周璐, 张洁, 李姝, 郑忠青, 王邦茂, 刘文天

■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)的病因及发病机制复杂。细胞免疫和体液免疫共同参与了AIH的肝损伤, 迄今为止已经发现了多种T、B淋巴细胞亚群, 他们在AIH的发生、发展及肝损伤过程中所起的作用各不相同。

肖锐, 陈楠, 方维丽, 周璐, 张洁, 李姝, 郑忠青, 王邦茂, 刘文天, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

肖锐, 天津医科大学内科学(消化系统疾病)硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 肖锐与刘文天对本文所作贡献均等; 此课题由肖锐、陈楠及刘文天设计; 临床病例资料由方维丽、周璐、张洁、李姝、郑忠青及王邦茂提供; 研究、实验操作及数据分析由肖锐与陈楠完成; 论文写作由肖锐、陈楠及刘文天完成。

通讯作者: 刘文天, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。

wentianliu160@gmail.com

电话: 022-60363800

收稿日期: 2013-09-10 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Abnormal peripheral blood lymphocyte subsets in patients with autoimmune hepatitis

Rui Xiao, Nan Chen, Wei-Li Fang, Lu Zhou, Jie Zhang, Shu Li, Zhong-Qing Zheng, Bang-Mao Wang, Wen-Tian Liu

Rui Xiao, Nan Chen, Wei-Li Fang, Lu Zhou, Jie Zhang, Shu Li, Zhong-Qing Zheng, Bang-Mao Wang, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Wen-Tian Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. wentianliu160@gmail.com

Received: 2013-09-10 Revised: 2013-10-23

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the abnormal changes in peripheral blood lymphocyte subsets in patients with autoimmune hepatitis and to analyze their correlations with liver dysfunction, immunoglobulin (Ig) and hepatitis activity index (HAI) to explore the significance of abnormal lymphocyte subsets in the diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis (AIH).

METHODS: Thirty-six patients who were diagnosed with AIH and did not accept prior immunosuppressive therapy were included. Thirty-six healthy subjects were used as controls. Patients in both groups received tests of liver function and immune function. Liver biopsy and histopathological examination were carried out to

evaluate HAI score for AIH patients. The subsets of T lymphocytes, B lymphocytes and regulatory T cells (Tregs) were detected by flow cytometry (FCM). Correlations between the percentages of lymphocyte subgroups and liver function, Ig and HAI score were evaluated.

RESULTS: The percentages of CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, CD19⁺ B, CD5⁺CD19⁺ B and the ratios of CD3⁺CD4⁺ T/CD3⁺CD8⁺ T and CD5⁺CD19⁺ B/CD19⁺ B cells were all significantly higher in AIH patients than in controls (all $P < 0.05$). However, there was no statistical significance in the percentage of CD4⁺CD25⁺CD127dim Tregs between the two groups. The percentages of CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, and CD5⁺CD19⁺ B cells had a positive correlation with serum levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and HAI score. The percentage of CD5⁺CD19⁺ B cells was positively related to IgG ($r = 0.482, P < 0.01$).

CONCLUSION: In AIH patients, abnormal peripheral blood T and B lymphocyte subsets may lead to the aggravation of liver injury. Cellular immunity mediated by T lymphocyte subsets may be more closely related to liver injury and hepatic inflammatory activity. Immuno-regulatory effect of regulatory T cells may not be obvious in AIH patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; Lymphocyte subgroup; Indicator of liver function; Immunoglobulin; Hepatitis activity index

Xiao R, Chen N, Fang WL, Zhou L, Zhang J, Li S, Zheng ZQ, Wang BM, Liu WT. Abnormal peripheral blood lymphocyte subsets in patients with autoimmune hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4006-4013 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4006.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4006>

摘要

目的: 研究自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者外周血淋巴细胞亚群的表

■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

达及与肝功能、免疫球蛋白和肝脏炎症活动指数(hepatitis activity index, HAI)的相关性,探讨在AIH诊断及治疗中的意义。

方法: 选择确诊且未经治疗的AIH患者36例,为AIH组;36例健康者为对照组。分别检测肝功能、免疫球蛋白, AIH组行肝穿刺检查,评价肝脏炎症活动性。流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群的比率,并与肝功能、免疫球蛋白及HAI评分进行相关性分析。

结果: AIH组外周血CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, CD19⁺ B, CD5⁺CD19⁺ B比率及CD3⁺CD4⁺ T/CD3⁺CD8⁺ T, CD5⁺CD19⁺ B/CD19⁺ B比值明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$); CD4⁺CD25⁺CD127dim T比率较对照组,差异无统计学意义。AIH组CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, CD5⁺CD19⁺ B比率分别与丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶及HAI评分呈正相关; CD5⁺CD19⁺ B比率与免疫球蛋白G呈正相关($r=0.482, P<0.01$)。

结论: 淋巴细胞亚群的异常表达是导致肝脏炎症损伤加重的直接因素,细胞免疫与肝脏炎症损伤的关系更为密切;调节性T细胞在AIH中的免疫抑制作用或许不明显。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自身免疫性肝炎;淋巴细胞亚群;肝功能指标;免疫球蛋白;肝炎活动指数

核心提示: 既往研究认为具有免疫负调节作用的调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)在自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者体内的低表达进一步加重肝脏炎症损伤。而本研究发现AIH患者外周血Tregs的表达并无明显下调,这可能是由于免疫微环境的改变,又或者是Tregs参与了机体的抗炎反应,而非免疫抑制作用。

肖锐, 陈楠, 方维丽, 周璐, 张洁, 李姝, 郑忠青, 王邦茂, 刘文天. 自身免疫性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群的异常表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4006-4013 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4006.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4006>

0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种病因不明、病理机制复杂的慢性炎症性疾病,主要表现为肝功能异常、免疫球蛋白升高、多种自身抗体阳性和特异性的肝组织病理学异常

改变^[1,2],其主要发病机制与遗传易感性、环境促发因素、抗原交叉反应及免疫功能异常密切相关。目前研究认为,导致AIH肝损伤的免疫调节过程复杂,可能由细胞免疫和体液免疫共同介导^[3],而淋巴细胞亚群的表达可能在其中发挥着重要的作用,然而,淋巴细胞亚群的异常表达如何参与AIH发病的机制尚无定论。另外,具有免疫抑制功能的调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)在肝损伤过程中如何发挥作用目前还不明确。因此,本研究就AIH患者外周血T、B淋巴细胞亚群的表达进行检测,并与肝功能指标、免疫球蛋白以及肝脏炎症活动性指数(hepatitis activity index, HAI)进行相关性分析,以探讨T、B淋巴细胞亚群及Tregs是如何参与肝细胞的自身免疫损伤,为今后AIH的临床诊断及治疗提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 材料 选择2011-04/2012-12在本院就诊的AIH患者36例,为AIH组,女性31例,男性5例,平均年龄61岁±10.5岁,其诊断参照2002年美国肝病学会修订发表的AIH诊断标准及评分标准(Czaja and Freese, 2002)^[4]。选择健康志愿者36例为正常对照组,女性28例,男性8例,平均年龄44.3岁±13.6岁。两组间年龄、性别比较无差异。分别采集两组研究对象清晨空腹时的外周静脉血,进行肝功能、免疫球蛋白和淋巴细胞亚群检测。AIH组肝穿刺活检以进行病理学检查,参照Knodell评分系统^[5]进行肝脏炎症活动性评价。实验器材及试剂准备:实验采用全自动生物化学分析仪(Olympus AU5400系统)检测肝功能指标:丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT),天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),γ-谷氨酰转氨酶(γ-glutamyltransferase, γ-GT),碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP),总胆红素(total bilirubin, TBiL),直接胆红素(direct bilirubin, DBiL);罗氏(Roche)E170电化学发光法检测免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA), IgG和IgM; FACSCA型流式细胞仪(Becton, Dickinson and Company, New York, USA)检测T、B淋巴细胞亚群;所用试剂包括:PERCP-CD3/FITC-CD4/PE-CD8试剂盒、APC-CD19抗体、FITC-CD5抗体、PE-CD4抗体、FITC-CD25抗体、APC-CD127抗体和溶血素,均购自美国BD公司(Becton, Dickinson and

■ 研究前沿

T、B淋巴细胞与AIH的免疫炎症反应具有密切关系。目前研究发现T、B淋巴细胞具有多种不同功能的亚群,各亚群对AIH发生和发展的影响越来越受到重视,而调节性T细胞在AIH中的免疫调节作用还有待深入研究。

■ 相关报道

目前研究认为AIH的免疫炎症反应是由细胞免疫和体液免疫共同介导的,细胞免疫与肝损伤的关系更为密切。近年来,调节性T细胞在AIH中的作用备受关注。淋巴细胞亚群参与AIH免疫损伤的认识不断得到巩固和更新,为AIH的临床诊疗也提供了新的依据。

表 1 AIH组与对照组外周血T、B淋巴细胞亚群比率的比较 ($n = 36$, mean \pm SD, %)

	AIH组	对照组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
CD3 ⁺ T	61.820 \pm 11.935	64.739 \pm 7.615	-1.237	0.220
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T	46.952 \pm 21.107	35.322 \pm 3.408	3.264	0.002 ^a
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T	33.288 \pm 11.308	25.245 \pm 3.076	4.118	0.000 ^a
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T/CD3 ⁺ CD8 ⁺ T	1.592 \pm 0.356	1.421 \pm 0.178	2.572	0.012 ^a
CD19 ⁺ B	13.510 \pm 5.536	9.940 \pm 1.207	3.780	0.000 ^a
CD5 ⁺ CD19 ⁺ B	8.448 \pm 6.089	2.840 \pm 0.915	4.073	0.000 ^a
CD5 ⁺ CD19 ⁺ B/CD19 ⁺ B	0.776 \pm 0.652	0.294 \pm 0.100	3.262	0.000 ^a
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127dim T	5.586 \pm 2.170	6.094 \pm 1.363	-0.886	0.382

^a $P < 0.05$ vs 对照组. AIH: 自身免疫性肝炎.

Company, New York, USA).

1.2 方法 采用流式细胞术检测T、B淋巴细胞亚群,应用Cell-Quest软件分析其表达情况.分别采集AIH组与对照组的外周血约2 mL,加入肝素抗凝,备用.(1)T淋巴细胞亚群检测:取外周血100 μ L,加入CD3、CD4、CD8抗体20 μ L,置室温避光孵育20 min,加入溶血素400 μ L,混匀,上机分析;(2)B淋巴细胞亚群检测:取外周血100 μ L,分别加入CD19、CD5抗体各20 μ L,置室温避光孵育15 min,溶血素1 mL,1500 r/min离心5 min,弃上清液,加入1 mL PBS混匀,1500 r/min,离心5 min,弃上清液,加入300 μ L PBS,混匀,上机分析;(3)调节性T细胞检测:取外周血100 μ L,分别加入CD4、CD25、CD127抗体各20 μ L,室温避光孵育15 min,加入溶血素1 mL,1500 r/min离心5 min,弃上清液,加入1 mL PBS混匀,1500 r/min,离心5 min,弃上清液,加入300 μ L PBS,混匀,上机分析.

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行数据分析,所获计量资料均经正态性及方差齐性检验,采用两个独立样本均数的*t*检验,相关性分析采用Bivariate Correlations分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 外周血T、B淋巴细胞亚群改变 AIH组外周血CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T, CD19⁺ B, CD5⁺CD19⁺ B比率以及CD3⁺CD4⁺ T/CD3⁺CD8⁺ T, CD5⁺CD19⁺ B/CD19⁺ B比值均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$); AIH组外周血CD3⁺ T, CD4⁺CD25⁺CD127dim T比率与对照组相比,差异无统计学意义(表1,图1A-F).

2.2 肝功能、免疫球蛋白及HAI评分 AIH组肝功

能中ALT、AST、 γ -GT、TBiL和DBiL与对照组相比明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),免疫球蛋白检测结果示IgG明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而ALP、IgM、IgA两组相比差异无统计学意义(表2); AIH患者行肝穿病理学检查,分别从汇管区坏死、小叶内炎症、门静脉炎症以及肝纤维化四个方面评价肝组织炎症活动程度,以HAI评分(0-22分)表示(图2).

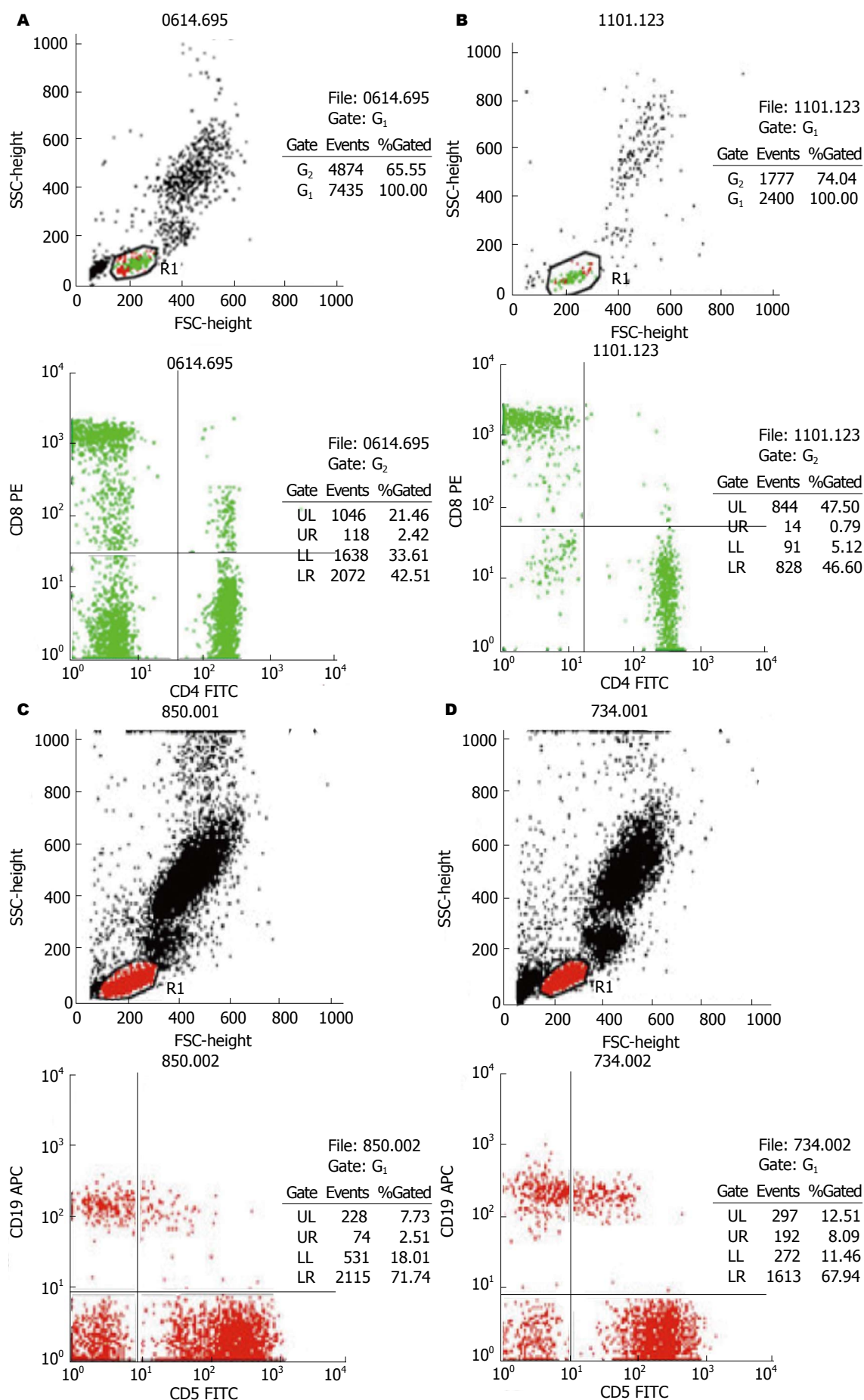
2.3 淋巴细胞亚群改变与肝功能、免疫球蛋白及HAI评分的相关性分析

2.3.1 T细胞亚群改变与肝功能、免疫球蛋白及HAI评分的相关性分析: AIH患者的T细胞亚群CD3⁺CD4⁺ T比率分别与肝功能指标ALT、AST呈正相关(r 分别为0.860, 0.826, $P < 0.01$), CD3⁺CD8⁺ T比率分别与ALT、AST呈正相关(r 分别为0.884, 0.863, $P < 0.01$); 并且CD3⁺CD4⁺ T, CD3⁺CD8⁺ T比率与HAI评分呈正相关(r 分别为0.738, 0.769, $P < 0.01$). 而CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T比率与ALP、 γ -GT、TBiL、DBiL则无相关性.

2.3.2 B细胞亚群改变与肝功能、免疫球蛋白及HAI评分的相关性分析: AIH患者的B细胞亚群CD5⁺CD19⁺ B比率分别与肝功能指标中的ALT、AST呈正相关(r 分别为0.577, 0.642, $P < 0.05$),与ALP、 γ -GT、TBiL、DBiL无相关性; 与HAI评分也呈正相关($r = 0.334$, $P < 0.05$); 与血清IgG呈正相关($r = 0.482$, $P < 0.01$),但与IgM、IgA则无相关性.

3 讨论

Liberal等^[6]在综述了近年来有关AIH发病相关免疫机制的研究后发现,肝脏受损伤的可能途径



■应用要点

通过本文可了解 AIH 患者外周血 T、B 淋巴细胞亚群的异常表达情况, 并结合异常的临床指标及肝组织病理学改变, 进一步明确肝损伤的机制, 为今后 AIH 的临床诊断及治疗提供新的思路。

■同行评价

本文选题较先进, 技术路线设计合理, 具有一定的学术价值。

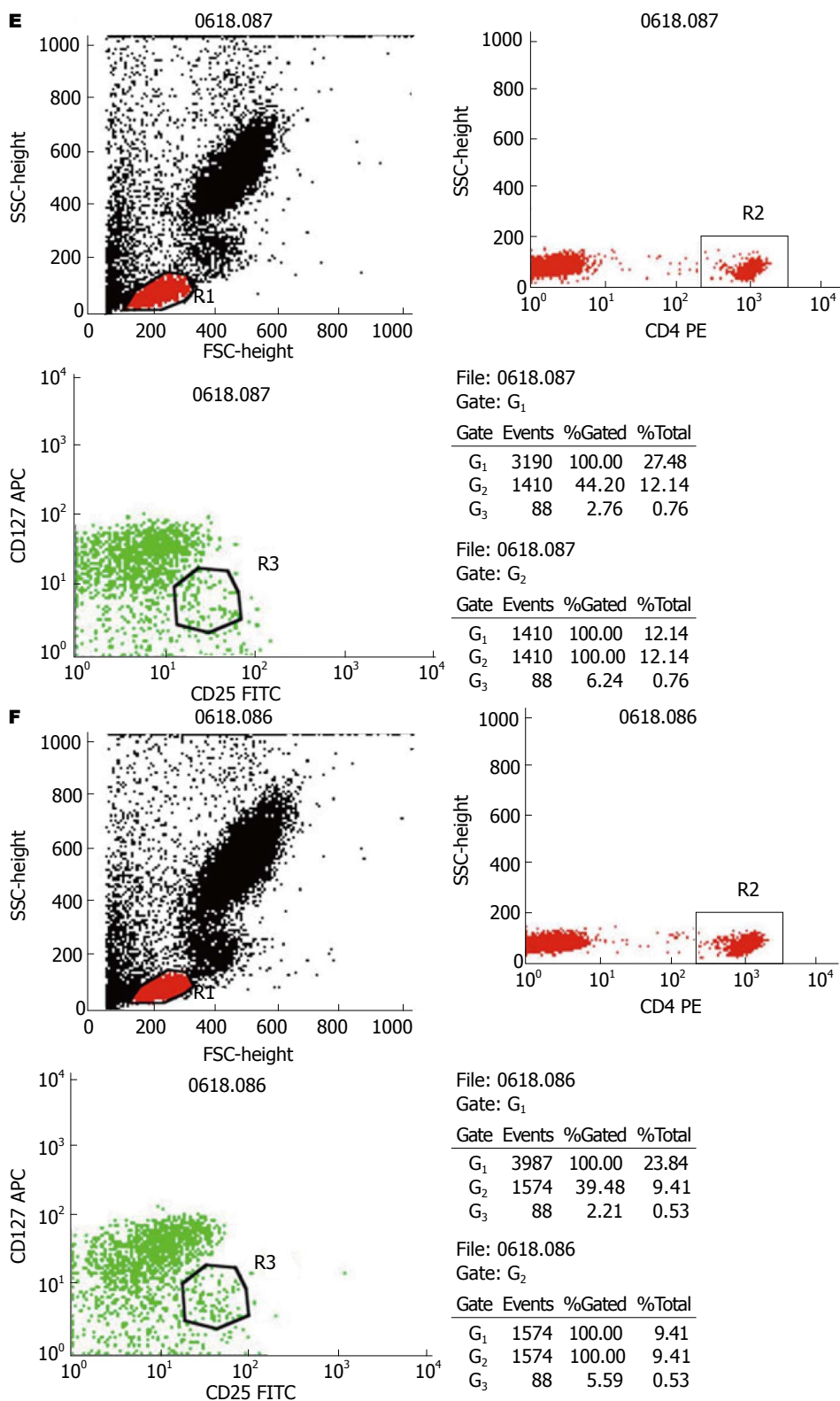


图1 流式细胞仪检测AIH患者及正常对照组的T、B淋巴细胞亚群改变。A: 正常对照组T淋巴亚群CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T; B: AIH组T淋巴亚群CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T; C: 正常对照组B淋巴亚群CD19⁺ B、CD5⁺CD19⁺ B; D: AIH组B淋巴亚群CD19⁺ B、CD5⁺CD19⁺ B; E: 正常对照组调节性T细胞CD4⁺CD25⁺CD127dim Tregs; F: AIH组调节性T细胞CD4⁺CD25⁺CD127dim Tregs。AIH: 自身免疫性肝炎。

为: 肝细胞表达的人类白细胞抗原 II (human leukocyte antigen- II, HLA- II) 类分子与自身抗原形成复合物, 由抗原递呈细胞递呈至辅助性T细胞

(T-helper, Th)Th0, 经诱导分化为Th1、Th2。Th1分泌细胞因子增强HLA- I 类分子的表达, 刺激细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)

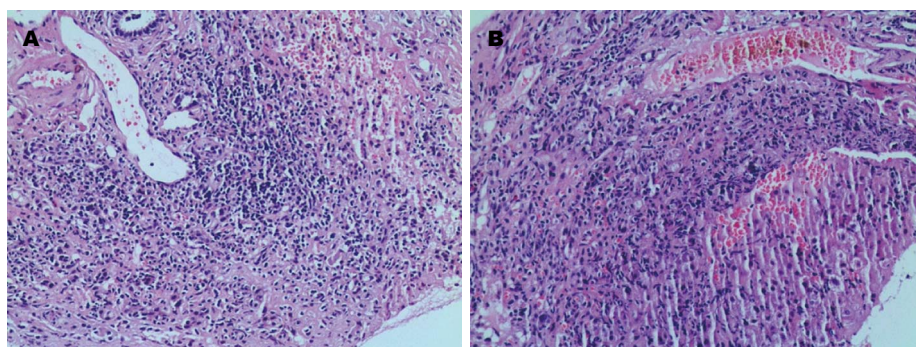


图 2 AIH患者肝组织不同程度的病理学改变(H&E × 100). A: AIH患者肝组织汇管区大量淋巴细胞、浆细胞浸润; B: AIH患者肝细胞中-重度碎屑样坏死. AIH: 自身免疫性肝炎.

表 2 AIH组与对照组肝功能、免疫球蛋白的比较及HAi评分 ($n = 36$, mean \pm SD)

	AIH组	对照组	t 值	P 值
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	180.917 \pm 175.525	26.111 \pm 10.959	5.281	0.000 ^a
天冬氨酸氨基转移酶(U/L)	169.861 \pm 171.128	22.889 \pm 8.905	5.146	0.000 ^a
碱性磷酸酶(U/L)	189.300 \pm 38.097	90.850 \pm 35.513	8.454	0.754
γ -谷氨酰转氨酶(U/L)	148.000 \pm 39.618	31.600 \pm 16.291	12.152	0.000 ^a
总胆红素(μ mol/L)	87.880 \pm 114.881	13.900 \pm 10.897	2.867	0.007 ^a
直接胆红素(μ mol/L)	59.965 \pm 83.909	5.585 \pm 4.157	2.895	0.006 ^a
免疫球蛋白G(mg/dl)	1740.278 \pm 652.731	1154.639 \pm 309.144	4.865	0.000 ^a
免疫球蛋白M(mg/dl)	141.125 \pm 63.042	165.200 \pm 90.233	-0.978	0.334
免疫球蛋白A(mg/dl)	284.100 \pm 176.027	229.000 \pm 119.162	1.158	0.254
炎症活动指数(F)	5.222 \pm 2.030			

^a $P < 0.05$ vs 对照组. AIH: 自身免疫性肝炎.

增殖并分化, 发挥细胞毒作用杀伤肝细胞. Th2分泌细胞因子诱导B细胞增殖分化为浆细胞产生自身抗体, 加重肝细胞损伤. 本研究发现AIH患者外周血T、B淋巴细胞亚群CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T、CD19⁺ B、CD5⁺CD19⁺ B的表达较正常人明显增多, 他们分别反映了初始Th0、CTL、初始B细胞和浆细胞活化增殖水平的相应提高. 活化后的CD3⁺CD4⁺ T经诱导分化为Th1和Th2, Th1刺激CD3⁺CD8⁺ T发挥细胞毒作用杀伤肝细胞, 主要参与细胞免疫和炎症反应; Th2诱导CD19⁺ B增殖分化为CD5⁺CD19⁺ B, 后者分泌自身抗体参与肝脏自身免疫反应. 这一研究结果与上述文献的观点一致, AIH患者外周血T、B淋巴细胞亚群的表达增多, 其介导的细胞免疫和体液免疫应答也相应增强, 因而淋巴细胞亚群的异常表达在AIH发病及肝损伤过程中可能发挥重要作用.

Tregs是一类具有独立功能的T细胞亚群, 主要通过抑制CD4⁺ T、CD8⁺ T的活化与增殖, 发挥免疫负调节作用. 有研究报道患者体内Tregs

数量的减少和/或功能的减低可能导致免疫应答的紊乱, 与AIH发病有关^[7,8]. 而本研究发现AIH患者外周血CD4⁺CD25⁺CD127dim Tregs比率较正常人无明显减低. 近年研究发现^[9-12], 在某些自身免疫性疾病中, Tregs的数量及功能并未减少或缺失, 甚至随着组织器官炎症程度的增加呈增高趋势. 一方面可能由于特定的免疫微环境阻止了Tregs的免疫抑制功能^[13], 另一方面可能由于Tregs随血液循环迁移到炎症部位后大量增殖, 以对抗炎症反应, 而非参与免疫负调节^[11]. 而在AIH患者体内是否也存在类似的机制则有待进一步的证实.

临床评价肝功能的指标主要有ALT、AST、ALP、 γ -GT、TbIL和DbIL, 他们能较敏感的提示肝细胞损伤的严重程度. AIH主要以血清ALT, AST升高为主, ALP、 γ -GT、TbIL和DbIL可轻度升高, 诊断AIH时ALP/AST(或ALT)<1.5对确诊更有意义^[14]. 本研究将AIH组淋巴细胞亚群分别与异常的肝功能指标进行相关性分析, CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T、

CD5⁺CD19⁺ B比率分别与ALT、AST呈正相关,其中CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T与ALT、AST的相关性更好,进一步提示T淋巴细胞亚群的异常活化可能与肝细胞损伤及坏死有关,因而导致血清肝功能指标ALT、AST升高明显.相关性分析还发现,CD5⁺CD19⁺ B比率与IgG呈正相关,与IgM和IgA无相关性,这表明异常活化的CD5⁺CD19⁺ B能够分泌以IgG为主的单反应性、高亲和力的自身抗体^[14],从而介导体内持续的免疫应答.另外, HAI评分作为衡量AIH肝组织病理学改变的指标,从汇管区坏死、小叶内炎症、门静脉炎症以及肝纤维化4个方面针对肝组织炎症活动程度进行评价,分数越高,肝脏炎症反应程度越重. AIH患者淋巴细胞亚群CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T、CD5⁺CD19⁺ B比率与HAI评分呈正相关,并且CD3⁺CD4⁺ T、CD3⁺CD8⁺ T与HAI评分相关性更好.因此,这一研究结果提示T淋巴细胞亚群介导的细胞免疫可能与AIH肝脏炎症活动性的关系更为密切.

总之, AIH的发病及肝损伤是由细胞免疫和体液免疫共同参与的.目前针对AIH的诊断,仍缺乏敏感性及特异性高的实验室指标,本研究通过测定AIH患者外周血T、B淋巴细胞亚群的表达,并结合异常的临床指标进行相关性研究后发现,淋巴细胞亚群的异常活化是导致肝脏炎症损伤加重的直接因素,其中T淋巴细胞亚群介导的细胞免疫与肝损伤及炎症活动性的关系更加密切,但具有免疫抑制功能的调节性T细胞在AIH中的作用或许不明显.因此,对于诊断及治疗困难的AIH患者,可以通过细胞免疫检测手段,例如检测其淋巴细胞亚群的表达情况,从而提高AIH的诊断效能,并采用药物或细胞制剂诱导相关亚群表达下调^[15,16],从而抑制肝脏免疫炎症反应.随着免疫学及分子生物学的发展, AIH的病因及发病机制将会得到深入了解,相应的治疗学也会更加丰富与完善.

4 参考文献

- Malekzadeh Z, Haghazali S, Sepanlou SG, Vahedi H, Merat S, Sotoudeh M, Nasser-Moghaddam S, Malekzadeh R. Clinical features and long term outcome of 102 treated autoimmune hepatitis patients. *Hepat Mon* 2012; 12: 92-99 [PMID: 22509185 DOI: 10.5812/hepatmon.]
- Zachou K, Muratori P, Koukoulis GK, Granito A, Gatselis N, Fabbri A, Dalekos GN, Muratori L. Review article: autoimmune hepatitis -- current management and challenges. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 887-913 [PMID: 24010812 DOI: 10.1111/

- apt.12470]
- Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology* 2006; 43: S132-S144 [PMID: 16447290 DOI: 10.1002/hep.21059]
- Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002; 36: 479-497 [PMID: 12143059 DOI: 10.1053/jhep.2002.34944]
- Knodel RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-435 [PMID: 7308988 DOI: 10.1002/hep.1840010511]
- Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 653-664 [PMID: 22117632 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.09.009]
- Longhi MS, Liberal R, Holder B, Robson SC, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Inhibition of interleukin-17 promotes differentiation of CD25 cells into stable T regulatory cells in patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 2012; 142: 1526-35.e6 [PMID: 22387392 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.041]
- Longhi MS, Mitry RR, Samyn M, Scalori A, Hussain MJ, Quaglia A, Mieli-Vergani G, Ma Y, Vergani D. Vigorous activation of monocytes in juvenile autoimmune liver disease escapes the control of regulatory T-cells. *Hepatology* 2009; 50: 130-142 [PMID: 19437492 DOI: 10.1002/hep.22914]
- Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 849-859 [PMID: 21107346]
- Sasaki M, Ikeda H, Sawada S, Sato Y, Nakanuma Y. Naturally-occurring regulatory T cells are increased in inflamed portal tracts with cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol* 2007; 60: 1102-1107 [PMID: 17158635 DOI: 10.1136/jcp.2006.044776]
- Peiseler M, Sebode M, Franke B, Wortmann F, Schwinge D, Quaas A, Baron U, Olek S, Wiegand C, Lohse AW, Weiler-Normann C, Schramm C, Herkel J. FOXP3+ regulatory T cells in autoimmune hepatitis are fully functional and not reduced in frequency. *J Hepatol* 2012; 57: 125-132 [PMID: 22425700 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.029]
- Sakaki M, Hiroishi K, Baba T, Ito T, Hirayama Y, Saito K, Tonoike T, Kushima M, Imawari M. Intrahepatic status of regulatory T cells in autoimmune liver diseases and chronic viral hepatitis. *Hepatol Res* 2008; 38: 354-361 [PMID: 18021223 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00284.x]
- Wiegand C, Frenzel C, Herkel J, Kallen KJ, Schmitt E, Lohse AW. Murine liver antigen presenting cells control suppressor activity of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Hepatology* 2005; 42: 193-199 [PMID: 15962311 DOI: 10.1002/hep.20756]
- Burastero SE, Casali P, Wilder RL, Notkins AL. Monoreactive high affinity and polyreactive low affinity rheumatoid factors are produced by CD5+ B cells from patients with rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 1988; 168: 1979-1992 [PMID: 3264319 DOI: 10.1084/jem.168.6.1979]
- Czaja AJ. Challenges in the diagnosis and manage-

ment of autoimmune hepatitis. *Can J Gastroenterol* 2013; 27: 531-539 [PMID: 24078938]
16 Czaja AJ. Promising pharmacological, molecular

and cellular treatments of autoimmune hepatitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 3120-3140 [PMID: 21902661 DOI: 10.2174/138161211798157568]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

超声测量幽门管内径对诊断十二指肠胃反流的临床意义

汪惠鹏, 王学梅, 王云忠

■背景资料

十二指肠胃反流(duodenogastric reflux, DGR)是消化系统常见的一种病理生理现象,临床上其诊断方法较多,但多为有创性。胃超声造影检查是近年来兴起的一项检查技术,具有方便、廉价、无创伤等优势,易于为患者接受。本技术对DGR的应用尚处于探索阶段,有待于更多的临床与基础研究。

汪惠鹏, 王学梅, 王云忠, 中国医科大学附属第一医院超声科 辽宁省沈阳市110001

汪惠鹏,在读硕士,主要从事腹部脏器及甲状腺的超声诊断。

作者贡献分布: 课题设计由汪惠鹏与王学梅完成; 研究过程由汪惠鹏与王云忠完成; 数据分析与论文撰写由汪惠鹏完成; 王学梅指导。

通讯作者: 王学梅,教授,主任医师,110001,辽宁省沈阳市和平区南京北街155号,中国医科大学附属第一医院超声科。

wxmlmt@163.com

电话: 024-83282442

收稿日期: 2013-09-09 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Significance of ultrasonic measurement of pyloric canal diameter in diagnosis of duodenogastric reflux

Hui-Peng Wang, Xue-Mei Wang, Yun-Zhong Wang

Hui-Peng Wang, Xue-Mei Wang, Yun-Zhong Wang, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xue-Mei Wang, Professor, Chief Physician, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wxmlmt@163.com

Received: 2013-09-09 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the significance of ultrasonic measurement of pyloric tube diameter in the diagnosis of duodenogastric reflux (DGR).

METHODS: Sixty-eight patients diagnosed with duodenogastric reflux by contrast-enhanced ultrasound at our hospital were selected and divided into a high reflux group and a low reflux group on the basis of reflux time and frequency. Thirty subjects without DGR were used controls. All patients were subjected to measurement of pyloric tube diameter to analyze the relationship between pyloric tube diameter and reflux time and frequency. The ROC curve analysis was also performed.

RESULTS: The pyloric tube diameter in both the high reflux and low reflux groups was significantly

cantly higher than that in the control group. The pyloric tube diameter was positively correlated with reflux time and frequency ($r = 0.822, 0.718$). ROC curve analysis revealed that the area under the curve (AUC) of duodenogastric reflux and high reflux was 0.920 and 0.789, respectively.

CONCLUSION: Ultrasonic measurement of pyloric canal diameter is useful for the clinical diagnosis of DGR.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ultrasonic; Pyloric tube diameter; Duodenogastric reflux

Wang HP, Wang XM, Wang YZ. Significance of ultrasonic measurement of pyloric canal diameter in diagnosis of duodenogastric reflux. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4014-4018 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4014.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4014>

摘要

目的: 探讨通过超声测量幽门管内径诊断十二指肠胃反流(duodenogastric reflux, DGR)的临床意义。

方法: 选取在我院进行胃超声造影检查被诊断为DGR的患者68例作为病例组,依据反流时间及反流频率分为高反流组与低反流组,并与30例无DGR的检查者作对照,测量所有检查者的幽门管内径,分析其与反流时间及反流频率的关系,并绘制ROC曲线。

结果: 高反流组与低反流组的幽门管内径明显高于对照组,组间差异有统计学意义。幽门管内径与反流时间及反流频率呈正相关,相关系数分别为 $r = 0.822$ 和 $r = 0.718$ ($P < 0.05$)。幽门管内径诊断DGR及诊断高反流患者的ROC曲线下面积分别为0.920和0.789。

结论: 通过测量幽门管内径有助于DGR的临床诊断。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■同行评议者

李健丁,教授,山西医科大学第一医院放射科CT室

关键词: 超声; 幽门管内径; 十二指肠胃反流

核心提示: 胃超声造影检查是近年来兴起的一项检查技术, 使用专用的胃肠超声造影剂可以直接的观察十二指肠胃反流的持续时间及反流频率. 临床工作中发现超声诊断为十二指肠胃反流(duodenogastric reflux, DGR)患者, 其幽门管内径较正常检查者明显增宽, 本文研究表明测量幽门管内径有助于DGR的临床诊断.

汪惠鹏, 王学梅, 王云忠. 超声测量幽门管内径对诊断十二指肠胃反流的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4014-4018
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4014.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4014>

0 引言

十二指肠胃反流(duodenogastric reflux, DGR)是指十二指肠内容物经幽门或不经幽门(手术切除者)反流到胃腔内, 是消化系统常见的一种病理生理现象. 我国曾进行过多中心调研, 结果提示约16.4%的慢性胃炎患者存在十二指肠胃反流^[1]. 胃超声造影检查是近年来兴起的一项检查技术, 可以直接的观察十二指肠胃反流的持续时间及反流频率, 目前国内尚未见应用该技术诊断DGR的公开报道. 临床工作中发现超声诊断为DGR患者, 其幽门管内径较正常检查者明显增宽, 本文将对这一现象进行详细的研究.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-01/2013-08在我院进行胃超声造影检查的患者, 其中诊断为十二指肠胃反流的患者68例作为病例组, 男32例, 女36例, 年龄14-88岁, 平均年龄44.3岁 \pm 10.6岁; 并选取同一时期进行检查并诊断无十二指肠胃反流的患者30例作为正常对照组, 其年龄分布及性别比例与病例组相似. 本项研究排除曾做过胃部手术的患者. 采用东芝SSA-790、飞利浦IU22型超声诊断仪, 使用电子凸阵探头, 中心频率为4 MHz. 胃肠造影剂为“天下”牌速溶胃肠超声助显剂(浙江湖州东亚医疗器械有限公司生产), 为均匀有回声型超声造影剂, 可以清楚地观察到造影剂的流动方向.

1.2 方法 患者常规禁食8 h, 禁水6 h, 患者将造影剂服下后即刻进行检查. 患者取右侧卧位, 扫描胃幽门部, 观察十二指肠内造影剂是否反流入胃腔内, 并于造影剂通过幽门管时, 测量其内径. 如有反流, 则通过超声工作站留取2 min

的动态影像, 记录并计算其2 min内的反流次数、平均反流时间及胃幽门管的内径. 将平均反流时间 ≥ 4 s且反流次数 ≥ 5 次称为高反流组, 平均反流时间 < 4 s或反流次数 < 5 次称为低反流组.

统计学处理 采用SPSS18.0统计软件进行分析, 计量资料用mean \pm SD表示. 多个样本均数比较采用单因素方差分析, 两样本均数比较采用独立样本 t 检验. 幽门管内径与反流时间及反流次数的关系采用Pearson相关分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组检查者观测值的比较 所有受检者均清晰显示胃幽门部图像, 并于造影剂通过幽门管时测量其内径(图1). 高反流组幽门管内径为 $6.31 \text{ mm} \pm 1.36 \text{ mm}$, 低反流组幽门管内径为 $4.98 \text{ mm} \pm 1.18 \text{ mm}$, 正常对照组幽门管内径为 $3.36 \text{ mm} \pm 1.03 \text{ mm}$, 组间差异有统计学意义($F = 45.453, P < 0.01$). 高反流组与低反流组、正常对照组幽门管内径比较差异均有统计学意义($t = 4.484, P < 0.01$ 和 $t = 9.648, P < 0.01$). 低反流组与正常对照组幽门管内径比较差异有统计学意义($t = 5.976, P < 0.01$). 高反流组与低反流组的平均反流时间分别为 $5.63 \text{ s} \pm 1.09 \text{ s}$ 和 $3.37 \text{ s} \pm 0.58 \text{ s}$, 差异有统计学意义($t = 10.2, P < 0.01$). 高反流组与低反流组2 min内反流次数分别为 $6.60 \text{ 次} \pm 1.19 \text{ 次}$ 和 $2.73 \text{ 次} \pm 1.11 \text{ 次}$, 差异有统计学意义($t = 13.757, P < 0.01$). 检查结果如表1.

2.2 幽门管内径与反流时间及反流次数的关系 十二指肠胃反流患者的幽门管内径与反流时间及反流次数呈正相关, 相关系数分别为($r = 0.822, P < 0.01$)、($r = 0.718, P < 0.01$). 幽门管内径与平均反流时间的相关性如图2.

2.3 幽门管内径诊断十二指肠胃反流的ROC曲线 幽门管内径诊断十二指肠胃反流ROC曲线下面积为0.92, 此时幽门管内径的诊断界值为4.25 mm, 即 $> 4.25 \text{ mm}$ 诊断为十二指肠胃反流, 诊断敏感度为82.4%, 特异度为86.7%. 幽门管内径诊断高反流患者的ROC曲线下面积为0.789, 幽门管内径的诊断界值为5.05 mm, 诊断敏感度为87.1%, 特异度为62.2%. 幽门管内径诊断十二指肠胃反流的ROC曲线如图3.

3 讨论

生理性十二指肠胃反流在人群中普遍存在^[2,3],

■ 研发前沿

目前评价DGR的方法较多, 如钡剂检查、内镜检查、超声及放射性核素检查、胃腔内压力测定及胆红素监测等. 这些方法存在很多问题, 除了方法、仪器自身需要进一步改进完善外, 很多方法并无明确的诊断指标和正常值. 胃超声造影检查目前对生理性和病理性DGR的划分亦无统一的标准, 亟待进一步的大样本研究.

■创新盘点

本文采用胃超声造影检查对DGR进行诊断,依据反流时间及反流频率将其分为高反流组与低反流组,并结合其幽门管内径进行分析,结果表明随着反流的程度加重,幽门管内径也逐渐增宽,可见通过幽门管内径的测量有助对该病的诊断。

表 1 各组检查者观测值的比较

分组	n	幽门管内径(mm)	平均反流时间(s)	2 min反流次数(次)
高反流组	30	6.31 ± 1.36	5.63 ± 1.09	6.60 ± 1.19
低反流组	38	4.98 ± 1.18	3.37 ± 0.58	2.73 ± 1.11
正常对照组	30	3.36 ± 1.03	—	—

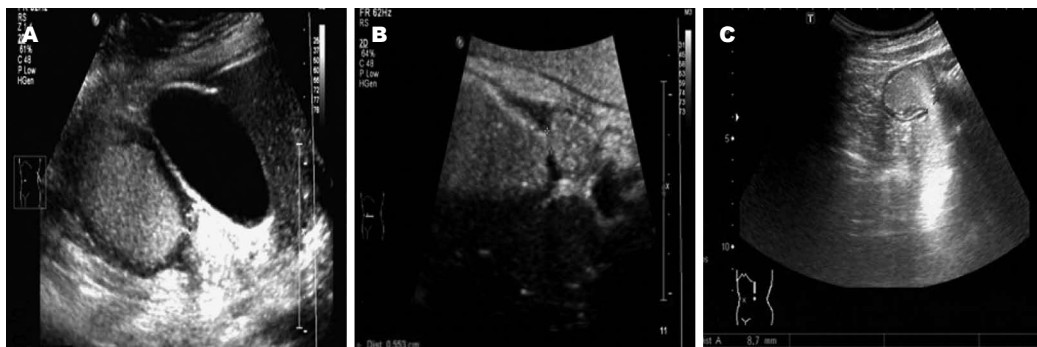


图 1 各组检查者声像图表现. A: 正常对照组检查者声像图, 幽门管内径为2.43 mm; B: 低反流组检查者声像图, 幽门管内径为5.53 mm; C: 高反流组检查者声像图, 幽门管内径为8.70 mm.

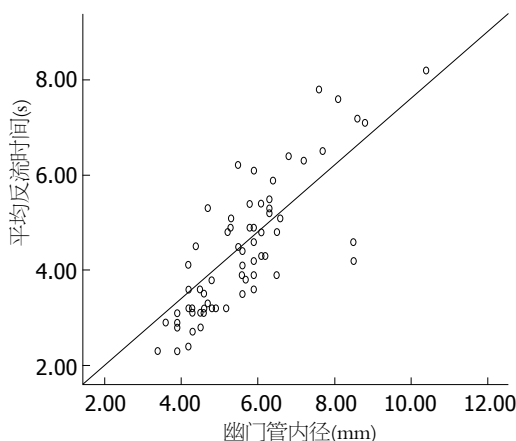


图 2 幽门管内径与平均反流时间的相关性.

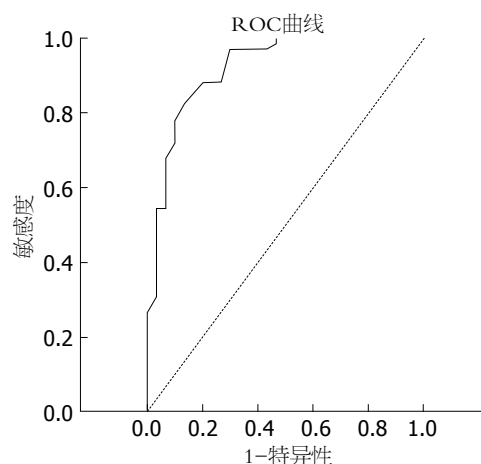


图 3 幽门管内径诊断十二指肠胃反流的ROC曲线.

十二指肠内容物反流入胃的时间短,胃窦部充分的蠕动能将通过幽门的少量十二指肠内容物清除,故不会对胃黏膜造成损害.当反流频率增加、反流持续时间延长以及反流量增大,造成胃黏膜损伤时,称为病理性DGR,又称为胆汁反流性胃炎(bile reflux gastritis, BRG).严重的DGR不仅可造成胃黏膜的慢性炎症,还与胃食管反流病^[4]、Barrett食管^[5]、食管腺癌^[6]、胃溃疡^[7]、胃癌^[8]等疾病的发生有关.在解剖结构正常者中,幽门起着重要的抗十二指肠胃反流作用,由于幽门本身内在的缺陷^[9]或受到内源性、外源性胃肠刺激引起幽门括约肌功能失调,这是发生DGR的重要机制^[10].胃超声造影检查可发现十二指肠内造影剂反流入胃内,表现为幽门管松弛、增宽、

关闭不全,与X线检查表现相似^[11],这是本研究的理论基础.

目前评价DGR的方法较多,如把钡剂注入十二指肠后用X线观察DGR,食用清肉汤后彩色多普勒超声检测法、内镜检查、放射性核素检查、十二指肠-胃腔内压力测定及十二指肠-胃腔内胆红素监测等.这些方法有的需要插管到胃或十二指肠,是一种侵入性检查,本身也会引起DGR^[12].有的方法如放射性核素检查和X线钡剂检查都要接触射线,对身体危害较大.这些方法存在很多问题,除了方法、仪器自身需要进一步改进完善外,很多方法并无明确的诊断指标和正常值,对生理性和病理性DGR的划分亦

无统一的标准^[13].

胃超声造影检查是使用专用的胃肠超声造影剂充盈胃腔以排除胃内气体干扰, 使得胃结构及其病变显示更加清晰的一种检查方法. 所使用的胃肠超声造影剂分为无回声型和有回声型两种. 本研究使用的是有回声型超声造影剂, 造影剂进入胃腔后呈均质点状高回声, 此类造影剂滞留时间长, 并可以清楚的显示内容物流动方向, 国内已有通过胃超声造影观察胃食管反流^[14,15]及食管裂孔疝^[16]的研究报道. 通过胃超声造影检查可以直接观察十二指肠内的造影剂是否反流入胃腔内, 其他方法多为通过监测胃内成分的改变间接诊断十二指肠胃反流. 胃超声造影检查具有方便、廉价、无创伤、无痛苦、无放射线、造影剂口感好等优势, 易于为患者接受, 可作为诊断十二指肠胃反流的首选方法.

临床工作中, 我们发现随着反流的出现及程度的加重幽门管内径逐渐增大, 统计学分析表明幽门管内径与平均反流时间及2 min内的反流次数呈明显的相关性, 由此我们认为通过测量幽门管内径有助于十二指肠胃反流的临床诊断. 本研究将十二指肠胃反流的患者分为高反流组与低反流组. 由于对胃黏膜破坏的程度与反流物的量和作用时间有关^[17-19], 因此我们认为高反流组多为病理性反流, 低反流组多为生理性反流. 部分患者同时行胃镜检查, 结果表明超声诊断为高反流的患者胃镜多有胃黏膜黄染、黏膜充血水肿、组织有糜烂和溃疡等表现, 但例数较少所以对于生理性与病理性DGR的诊断标准还有待于今后大样本量的研究. 通过ROC曲线分析我们可以看出, 以幽门管内径为4.25 mm作为诊断十二指肠胃反流的诊断阈值时, 有较高的敏感度及特异度. 以5.05 mm作为诊断高反流患者的诊断阈值时, 特异度仅为62.2%, 可见单纯以幽门管内径诊断病理性DGR时特异度相对较低, 所以临床上应联合几种检测方法做出诊断.

在临床工作中由于患者量较大, 不能长时间观测反流的频率, 故对反流的程度缺乏评价指标, 但结合幽门管的内径测量可以在一定程度上弥补这一缺陷. 一些基层医院还没有开展胃超声造影检查, 常为饮用矿泉水后扫查, 由于水在超声下为均质的无回声, 很难判断流动方向, 因此不能对十二指肠胃反流作出准确诊断, 但通过对幽门管内径的测量我们可以评估其患有

十二指肠胃反流的可能性.

总之, 超声测量幽门管内径有助于十二指肠胃反流的临床诊断, 并可以在一定程度上反映其严重程度, 对我们的临床工作具有一定指导意义.

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 慢性胃炎患者消化不良症状、胃动力功能及有关因素的多中心调研. 中华消化杂志 2006; 26: 602-605
- 2 Bollschweiler E, Wolfgarten E, Pütz B, Gutschow C, Hölscher AH. Bile reflux into the stomach and the esophagus for volunteers older than 40 years. *Digestion* 2005; 71: 65-71 [PMID: 15775673 DOI: 10.1159/000084521]
- 3 Hermans D, Sokal EM, Collard JM, Romagnoli R, Buts JP. Primary duodenogastric reflux in children and adolescents. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 598-602 [PMID: 12836018 DOI: 10.1007/s00431-003-1259-y]
- 4 Koek GH, Tack J, Sifrim D, Lerut T, Janssens J. The role of acid and duodenal gastroesophageal reflux in symptomatic GERD. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2033-2040 [PMID: 11467629 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03863.x]
- 5 Wolfgarten E, Pütz B, Hölscher AH, Bollschweiler E. Duodeno-gastric-esophageal reflux--what is pathologic? Comparison of patients with Barrett's esophagus and age-matched volunteers. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 479-486 [PMID: 17436133 DOI: 10.1007/s11605-006-0017-7]
- 6 Chen KH, Mukaisho K, Ling ZQ, Shimomura A, Sugihara H, Hattori T. Association between duodenal contents reflux and squamous cell carcinoma--establishment of an esophageal cancer cell line derived from the metastatic tumor in a rat reflux model. *Anticancer Res* 2007; 27: 175-181 [PMID: 17352229]
- 7 Kolesnikova Iu. [Quantitative-qualitative assessment of duodenogastric reflux at 24-h pH-metry]. *Ter Arkh* 2006; 78: 32-35 [PMID: 16613093]
- 8 Mabrut JY, Collard JM, Baulieux J. [Duodenogastric and gastroesophageal bile reflux]. *J Chir (Paris)* 2006; 143: 355-365 [PMID: 17285081]
- 9 Mason RJ, DeMeester TR. Importance of duodenogastric reflux in the surgical outpatient practice. *Hepato-gastroenterology* 1999; 46: 48-53 [PMID: 10228764]
- 10 戴菲. 十二指肠胃反流病因及发生机制的研究进展. 国外医学·消化疾病分册 2001; 21: 74-77
- 11 罗宏超, 周楠, 马晓燕. 十二指肠胃返流病X线诊断分型探讨. 中国中西医结合影像学杂志 2010; 8: 466-467
- 12 马进玉, 赵景涛. 胃镜对诊断肠胃反流的可靠性研究. 中国误诊学杂志 2001; 1: 390
- 13 姜志茹, 雷莉. 十二指肠胃反流的检查方法. 陕西医学杂志 2003; 32: 149-152
- 14 李献亮, 李义红, 韩文峰, 郑亚珍, 杨赞峰, 刘旭静. 胃超声造影对胃食管反流的诊断价值. 临床超声医学杂志 2012; 14: 124-126
- 15 李献亮, 李义红. 超声造影在生理与病理性胃食管反流鉴别中的价值. 河北医药 2012; 34: 745
- 16 李义红, 李献亮, 韩文峰, 郑亚珍. 胃超声造影诊断食管裂孔疝的价值. 中华医学超声杂志(电子版) 2012; 9: 525-528
- 17 Tack J. Review article: the role of bile and pepsin in the pathophysiology and treatment of gastro-

■应用要点

一些基层医院常为饮用矿泉水后扫查, 很难判断流动方向, 因此不能对DGR作出准确诊断, 但通过对幽门管内径的测量我们可以评估其患有DGR的可能性, 其内径越宽说明其为病理性反流的可能性就越大, 对我们的临床工作有一定指导意义.

■同行评价

本文通过超过测量幽门管内径评价其对DGR诊断的临床意义。总体设计严谨,科学性较强,有一定的实用性。

- oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24 Suppl 2: 10-16 [PMID: 16939428]
- 18 Fein M, Maroske J, Fuchs KH. Importance of duodenogastric reflux in gastro-oesophageal reflux dis-

ease. *Br J Surg* 2006; 93: 1475-1482 [PMID: 17051600 DOI: 10.1002/bjs.5486]

- 19 罗和生, 陈敏. 胆汁反流与急性胃黏膜病变. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1489-1492

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)。

落新妇对缺血再灌注损伤肝脏HO-1表达的影响

慕宁, 江艺, 吕立志

慕宁, 江艺, 吕立志, 中国人民解放军南京军区福州总院肝胆外科 福建省福州市 350025

慕宁, 主治医师, 主要从事肝胆外科、肝移植临床及相关的基础研究。

福建省自然科学基金重点资助项目, No. 2011Y0046

作者贡献分布: 慕宁与江艺完成研究总体设计与主要实验内容; 吕立志完成部分实验及数据的整理、分析。

通讯作者: 江艺, 主任医师, 博士生导师, 350025, 福建省福州鼓楼区西二环路156号, 中国人民解放军南京军区福州总院肝胆外科. jiangyi183@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-07-19 修回日期: 2013-08-06

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Effect of astilbin on HO-1 expression in hepatic warm ischemia-reperfusion injury

Ning Mu, Yi Jiang, Li-Zhi Lv

Ning Mu, Yi Jiang, Li-Zhi Lv, Department of Hepatobiliary Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Supported by: the Fujian Province Natural Science Foundation, No. 2011Y0046

Correspondence to: Yi Jiang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. jiangyi183@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-19 Revised: 2013-08-06

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To study the molecular mechanism behind the effects of astilbin in protecting the liver against warm ischemia-reperfusion injury.

METHODS: C57BL/6 mice were randomly divided into four groups ($n = 8$ for each): a sham-operated group (Sham), a model control group (I/R), a low dose astilbin treatment group (10 mg/kg) and a high dose astilbin (40 mg/kg) treatment group. At 24 h and 1 h before ischemia, mice in the two treatment groups were intraperitoneally injected with 10 and 40 mg/kg astilbin, respectively. Then 70% hepatic ischemia-reperfusion, including the left and middle hepatic lobes, were induced. The I/R model control group and the sham-operated group were administered with equal volume of normal saline. After 90 min ischemia and 6 h reperfusion

of the partial hepatic lobe, blood and liver tissue samples were collected. Serum ALT activity was detected, and the levels of NF- κ B and HO-1 in liver tissues were detected by Western blot. The mRNA expression of these molecules was detected by semiquantitative RT-PCR.

RESULTS: Compared with the I/R model control group, serum ALT in both low and high dose treatment groups significantly decreased (sham: $142 \text{ U/L} \pm 25 \text{ U/L}$; I/R: $3521 \text{ U/L} \pm 270 \text{ U/L}$; low dose group: $1766 \pm 179 \text{ U/L}$; high dose group: $1067 \text{ U/L} \pm 101 \text{ U/L}$, $P < 0.01$), and the decline was more significant in the high dose group than in the low dose group ($P < 0.01$). The protein content of NF- κ B in liver tissues gradually decreased in both treatment groups compared with the I/R model control group, and was lower in the high dose group than in the low dose group. HO-1 levels gradually increased in treatment groups, and the increase was more significant in the high dose group than in the low dose group. The results of mRNA expression showed a similar trend (sham: 0.53 ± 0.07 ; I/R: 1.00 ± 0.11 ; low dose group: 1.17 ± 0.16 ; high dose group: 1.57 ± 0.07 , $P < 0.05$ or < 0.01).

CONCLUSION: Intervention with astilbin can reduce the high levels of serum ALT caused by ischemia-reperfusion injury, down-regulate the high expression of NF- κ B protein and up-regulate the expression of HO-1 protein and mRNA in IRI liver tissues. The protective effect of astilbin against liver IRI is possibly related to the promotion of the expression of HO-1.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Alanine transaminase; Nuclear factor κ B; Heme oxygenase-1; Western blot; Semiquantitative RT-PCR

Mu N, Jiang Y, Lv LZ. Effect of astilbin on HO-1 expression in hepatic warm ischemia-reperfusion injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4019-4023
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4019.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4019>

■背景资料

缺血再灌注损伤是外科临床时常面对的难题, 肝脏是对缺血再灌注损伤最敏感的器官之一。多种信号通路参与其中, 肝脏热缺血再灌注过程中的炎症和损伤部分的依赖于Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR-4)信号通路, 因此通过抑制该信号通路达到减轻肝脏IRI的目的就显得前景诱人。血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)是热休克蛋白32成员, 肝脏HO-1最初由Kupffer细胞产生, 作为TLR-4的配体之一, 通过阻抑TLR-4信号通路产生较强的抗氧化、抗炎功能从而起到保护肝脏缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)的作用。

■同行评议者

门秀丽, 教授, 河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

■ 研发前沿

祖国传统医药对缺血再灌注损伤的保护作用是研究的热点。有研究表明葛根素可显著抑制缺血再灌注诱导的Caspase23的活化,减少缺血再灌注诱导的N2a细胞的凋亡程度,而人参皂甙Rb1被认为可以通过上调葡萄糖转运体1表达以维持脑组织的能量供给而发挥缺血再灌注脑损伤保护作用。落新妇甙属天然药物,口服吸收好,高效无不良反应,有文献报道落新妇甙能够通过干预氧自由基和脂质过氧化物生成,明显减轻四氯化碳引起的肝损伤;在刀豆球蛋白A(concanavalin A, Con A)诱导肝炎后,落新妇甙能够显著降低肿瘤坏死因子- α 的生成和肝脏Kupffer细胞的增殖。

摘要

目的:通过观察落新妇甙对肝脏热缺血再灌注损伤中血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)表达的影响,探讨其缺血再灌注保护作用的分子机制。

方法:C57BL/6小鼠随机分为4组($n=8$):假手术组(Sham)、模型组(I/R)、落新妇甙小剂量(10 mg/kg)干预组和落新妇甙大剂量(40 mg/kg)干预组。缺血前24和1 h干预组小鼠腹腔注射分别给予10或40 mg/kg的落新妇甙,建立肝左、中叶70%部分肝缺血再灌注模型,模型组和假手术组给予同样体积的生理盐水。小鼠肝脏左叶缺血90 min、再灌注6 h后各实验组采集血液和肝脏组织样本。检测血清中丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)活性, Western blot检测肝组织中核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)和HO-1蛋白含量,半定量RT-PCR检测上述分子mRNA表达情况。

结果:落新妇甙小、大剂量干预后血清ALT含量较I/R对照组均明显下降(假手术组:142 U/L \pm 25 U/L;模型组:3521 U/L \pm 270 U/L;落新妇甙小剂量干预组:1766 U/L \pm 179 U/L;落新妇甙大剂量干预组:1067 U/L \pm 101 U/L, $P<0.01$);落新妇甙小、大剂量干预组肝组织中NF- κ B蛋白表达与I/R模型对照组比较均渐次降低;落新妇甙小、大剂量干预组肝组织中HO-1蛋白表达与I/R模型对照组比较均渐次升高,亦与半定量RT-PCR结果相符(假手术组:0.53 U/L \pm 0.07 U/L;模型组:1.00 U/L \pm 0.11 U/L;落新妇甙小剂量干预组:1.17 U/L \pm 0.16 U/L;落新妇甙大剂量干预组:1.57 U/L \pm 0.07 U/L小剂量干预组 $P<0.05$;大剂量干预组 $P<0.01$)。

结论:落新妇甙干预能降低缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)引起的血清ALT水平升高;落新妇甙干预能降低IRI肝组织中NF- κ B蛋白的高表达,促进IRI肝组织HO-1蛋白和mRNA的表达,显示其保护作用与促进HO-1的表达密切相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:丙氨酸转氨酶;核因子- κ B;血红素加氧酶1; Western blot; 半定量RT-PCR

核心提示:落新妇甙对小鼠肝脏热缺血再灌注损伤具有保护作用,落新妇甙干预能降低缺血再灌注损伤肝脏核因子 κ B(nuclear factor κ B)蛋白的

高表达,显示其对Toll样受体4(Toll like receptor-4, TLR-4)炎症信号通路具有抑制作用。同时落新妇甙干预能促进缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)肝组织血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)蛋白和mRNA的表达,显示其对TLR-4通路的抑制与促进HO-1的表达密切相关。

慕宁, 江艺, 吕立志. 落新妇甙对缺血再灌注损伤肝脏HO-1表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4019-4023 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4019.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4019>

0 引言

血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)是热休克蛋白32成员,肝脏HO-1最初由Kupffer细胞产生,作为Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR-4)的配体之一,通过阻抑TLR-4信号通路产生较强的抗氧化、抗炎症功能^[1]从而起到保护肝脏缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)的作用。

落新妇甙(astilbin)是从土茯苓的乙醇提取液中分离得到的3个二氢黄酮醇甙之一,黄酮类化合物有较强的抗氧化作用,可作为递氢体清除氧自由基,从而在抗炎、减轻缺血再灌注损伤等方面发挥作用。本课题前期研究发现落新妇甙对小鼠肝脏热缺血再灌注损伤具有保护作用,显著降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的生成并提高白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)含量^[2,3]。本文继续探讨落新妇甙对HO-1和核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)在蛋白和/或mRNA水平上的影响,以期深入探讨其肝脏IRI保护作用的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 分析纯落新妇甙粉剂由杭州华东医药有限责任公司提供。实验中落新妇甙粉剂首先用二甲基亚砜溶解(40 mg/mL),使用时用生理盐水稀释至所需浓度。戊巴比妥钠(上海国药集团化学试剂有限公司);抗小鼠NF- κ B多抗(美国CST公司);抗小鼠HO-1单抗(StressGen Biotechnologies Canada);抗 β -actin抗体(Santa Cruz);羊抗鼠IgG二抗(KPL); SuperSignal West Femto超敏底物(Pierce); BCA法蛋白浓度检测试剂盒(凯基公司); TRIzol Reagent(Invitrogen); RNA PCR kit(AMV)Ver3.0试剂盒(TaKaRa); DNA Mark-

er(宝生物工程大连有限公司).

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理: 清洁级♂ C57BL/6小鼠40只, 体质量22-25 g(由中国人民解放军第二军医大学实验动物中心提供)用于实验. 动物分笼饲养于第二军医大学免疫教研室, 提供标准饮食. 动物实验遵守学校及实验室相应的动物实验有关规定. 随机分为4组(每组8只): 假手术组(假手术)、模型组(I/R), 落新妇小剂量(10 mg/kg)干预组、落新妇大剂量(40 mg/kg)干预组. 于缺血前24和1 h, 分别给落新妇干预组小鼠腹腔注射10或40 mg/kg的落新妇, 模型组和假手术组给予同样体积生理盐水. 再灌注时干预组经尾静脉注射第3次给同样剂量落新妇干预, 模型组和假手术组给予同样体积生理盐水.

1.2.2 建立动物模型: 采用70%部分肝脏缺血再灌注损伤模型, 按Zhai等^[4]报道的方法操作.

1.2.3 肝功检测: 缺血90 min, 再灌注6 h后, 采集小鼠血液0.3-0.5 mL于1.5 mL EP管中, 3000 r/min离心5 min, 小心吸取上层血清装于干净EP管中, 检测丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)的活性.

1.2.4 肝脏组织样品准备: 缺血90 min, 再灌注6 h后各实验组小鼠左叶肝组织取样, 分为3部分. 一部分固定于甲醛溶液, 切片用于组织病理学检测(HE染色); 另一部分肝组织制成匀浆, 用于酶学指标; 第3部分肝组织于液氮中保存, 用于Western blot及RT-PCR分析.

1.2.5 Western blot检测肝组织HO-1和NF-κB蛋白表达: 取各组冻存的缺血90 min, 再灌注6 h肝组织100 mg, 用研钵粉碎组织块, 按照3 mL/g加入放射免疫沉淀测定(radio immunoprecipitation assay, RIPA)缓冲液及苯甲基磺酰氟, 以12000 r/min, 4℃高速离心30 min, 小心收集上清, 按照凯基公司BCA法蛋白浓度检测试剂盒说明书进行蛋白定量, 空白对照采用RIPA. 调整各组样品蛋白浓度至一致, 常规电泳、转膜、封闭. 按说明书要求加入一抗、二抗, 将Western印迹发光检测试剂中的A液和B液等体积混匀, 室温孵育5 min, 于凝胶成像分析检测仪上进行检测.

1.2.6 半定量RT-PCR检测肝组织HO-1 mRNA表达: (1)总RNA的抽提与纯度鉴定: 取各组冻存的小鼠肝脏组织100 mg. 按TRIzol试剂说明书进行抽提. 紫外分光光度仪在波长260和280 nm的紫外吸光度(A)值, 计算 $A_{260/280}$ 的比值, 鉴定mRNA浓度和纯度, 根据所测浓度加入DEPC水稀释

成0.5 g/L浓度, 保存于-80℃; (2)RT-PCR: 应用TaKaRa公司RT-PCR扩增试剂盒扩增目的基因. 各基因引物序列: HO-1正义5'- AAG CCG AGA ATG CTG AGT TCA -3'; 反义5'- CAG TGA GGC CCA TAC CAG AA -3'; β-actin正义5'- AGT GTG ACG TTG ACA TCC GT -3'; 反义5'- GCA GCT CAG TAA CAG TCC GC -3'; 引物合成由上海生物工程技术有限公司完成. 反应条件: 94℃预变性2 min后, 94℃变性30 s, 退火30 s 72℃延伸1 min, 共35个循环, 最后72℃延伸10 min. HO-1扩增片段223 bp, 退火温度50℃, 循环次数35次; (3)电泳及扩增产物成像分析: PCR产物9 μL加1 μL含溴酚蓝指示剂的缓冲液(10×)混匀, 置于1.2%琼脂糖凝胶中, 其中包括DNA marker, 稳定电压80 V, 电泳1 h. 紫外透射仪下查看, 再用Gel-Pro IMAGER 60-2517型成像分析系统进行分析, 测定各条带A值, 计算各产物与β-actin的A值比值, 即为目的RNA的相对表达量, 计算公式: 相对产物电泳条带A值/β-actin产物电泳条带A值.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示. 采用SPSS10.0软件进行所有数据的统计学处理. 多组间比较采用完全随机方差分析, SNK法分析组间差异, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用C57BL/6小鼠40只, 分为4组, 进入结果分析32只.

2.2 落新妇对血清中ALT的影响 10和40 mg/kg落新妇干预组血清ALT含量与模型组相比均明显下降($P < 0.01$), 大剂量干预组(40 mg/kg)较小剂量组更明显($P < 0.01$)(图1).

2.3 落新妇对肝组织NF-κB蛋白表达的影响 Western blot检测肝组织中NF-κB蛋白水平的表达, 结果显示: I/R对照组与Sham组比较, NF-κB表达明显增强, 落新妇小、大剂量干预后, NF-κB表达渐次减弱(图2).

2.4 落新妇对HO-1表达的影响

2.4.1 落新妇对肝组织HO-1蛋白表达的影响: Western blot检测肝组织中HO-1蛋白水平的表达, 结果显示: 与I/R对照组比较, 落新妇小、大剂量干预后, HO-1表达渐次增强(图3).

2.4.2 落新妇对肝组织HO-1 mRNA表达的影响: 半定量结果显示, Sham组HO-1表达较低(0.53 ± 0.07), 与I/R对照组比较(1.00 ± 0.11), 落新妇(A)小剂量干预能上调HO-1 mRNA表达

■ 相关报道

有研究报道落新妇在接触性皮炎模型中能显著促进IL-10、SOCS1和SOCS3的表达, 减轻炎症反应. 在肾缺血再灌注损伤中, 研究发现落新妇通过抑制巨噬细胞的趋化和活化发挥保护作用.

■应用要点

本文探讨落新妇甙对HO-1和核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)在蛋白和/或mRNA水平上的影响, 研究发现落新妇甙干预能降低NF- κ B蛋白的高表达, 显示其对TLR-4炎症信号通路具有抑制作用。同时落新妇甙干预能促进IRI肝组织HO-1蛋白和mRNA的表达, 显示其对TLR-4通路的抑制与促进HO-1的表达密切相关。探讨了落新妇甙在肝脏缺血再灌注保护作用的分子机制, 从而为其进一步应用于临床提供了理论依据。

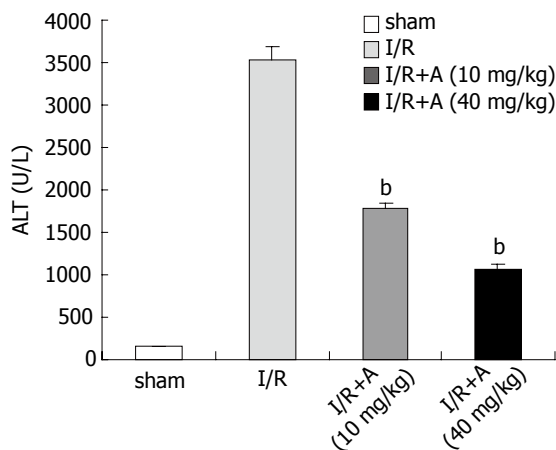


图1 落新妇甙对血清ALT的影响。热缺血90 min, 再灌注6 h后ELISA法检测各组血清ALT。 ^b $P<0.01$ vs I/R组。ALT: 丙氨酸转氨酶。

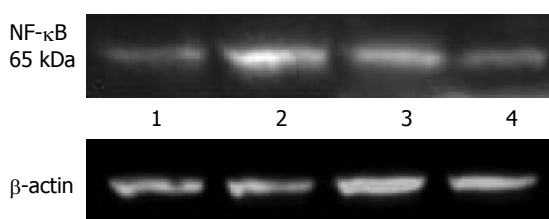


图2 落新妇甙对肝组织NF- κ B蛋白的影响。1: Sham; 2: I/R; 3: I/R+A (10 mg/kg); 4: I/R+A (40 mg/kg)。NF- κ B: 核因子- κ B。

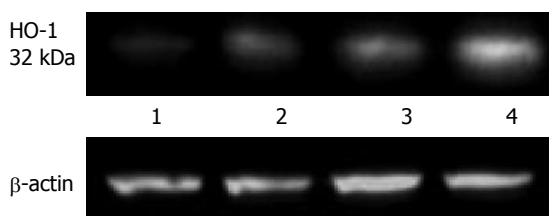


图3 落新妇甙对肝组织HO-1蛋白的影响。1: Sham; 2: I/R; 3: I/R+A (10 mg/kg); 4: I/R+A (40 mg/kg)。HO-1: 血红素加氧酶1。

(1.17 ± 0.16 , $P<0.05$), 大剂量则明显增强HO-1 mRNA表达(1.57 ± 0.07 , $P<0.01$)(图4, 5)。

3 讨论

肝脏缺血再灌注损伤涉及复杂的分子机制, 诸多分子通道与炎症因子产物相互反馈、作用, 产生一系列的级联效应, 导致肝组织的严重损伤。研究发现激活的肝脏非实质细胞(尤其Kupffer细胞)通过TLR-4信号通路在肝脏热缺血再灌注损伤中发挥重要作用^[5]。肝脏热缺血再灌注过程中的炎症和损伤部分的依赖于TLR-4信号通路^[4,6]。本课题前期研究发现落新妇甙对

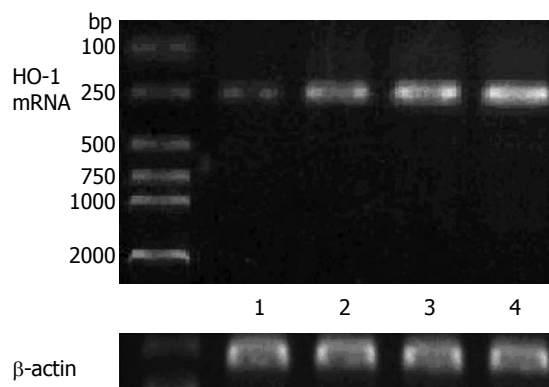


图4 落新妇甙(A)对肝组织HO-1 mRNA的影响。1: Sham; 2: I/R; 3: I/R+A (10 mg/kg); 4: I/R+A (40 mg/kg)。HO-1: 血红素加氧酶1。

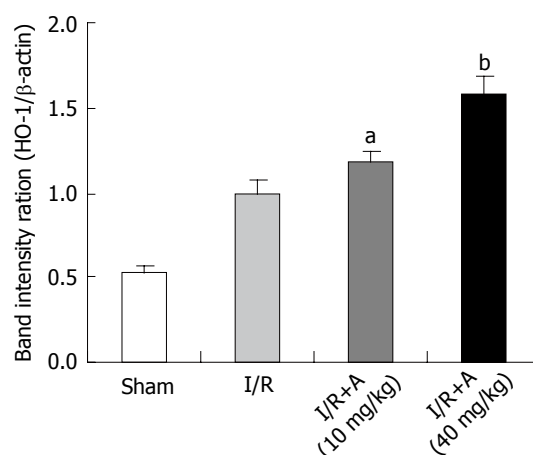


图5 落新妇甙(A)对肝组织HO-1 mRNA表达影响半定量分析。A: SO组; B: AEP组; C: ANP组。 ^a $P<0.05$ vs I/R组; ^b $P<0.01$ vs I/R组。HO-1: 血红素加氧酶1。

小鼠肝脏热缺血再灌注损伤具有保护作用, 显著降低TNF- α 的生成并提高白介素10(interleukin-10, IL-10)含量。文献报道^[7], 在刀豆球蛋白A(concanavalin A, Con A)诱导肝炎后, 落新妇甙能够显著降低TNF- α 的生成和肝脏Kupffer细胞的增殖。提示落新妇甙对肝脏IRI保护作用的机制可能是通过干预TLR-4信号通路实现的。

HO-1是热休克蛋白32成员, 而热休克蛋白正是TLR-4的内源性配体之一。因其具有较强的抗氧化、抗炎症功能而在IRI研究中得到关注。Tsuchihashi等^[8]利用钴原卟啉(cobalt protoporphyrin, CoPP)诱导HO-1过表达, 过表达的HO-1下调信号转导子及转录激活子(signal transducer and activator of transcription-1, STAT-1)的表达及其所触发的CXCL-10的产生, 而CXCL-10是TLR4活化下游I型IFN途径的主要产物。HO-1

的上述作用带来了明显改善的小鼠肝脏热缺血再灌注损伤的保护效果。本研究结果观察到落新妇干预能明显促进肝组织HO-1蛋白和mRNA的表达,这种促进作用在大剂量给药时更为明显,提示其对肝脏IRI的保护作用与促进HO-1的表达密切相关。

NF- κ B属于NF- κ B/Rel蛋白家族,是TLR-4信号通路中的关键分子。NF- κ B可能通过多个方式和途径参与肝缺血再灌注损伤。组织缺血再灌注时伴有NF- κ B活性增高,并可诱发和加重组织的损伤^[9],而阻断NF- κ B的活性可明显减轻组织器官的再灌注损伤^[10,11]。白介素-10、糖皮质激素、水杨酸类等药物预处理,均可通过下调NF- κ B活性拮抗肝缺血再灌注损伤,发挥保护效应^[12,13]。本研究结果亦观察到肝脏IRI导致肝脏NF- κ B蛋白表达增强,落新妇干预能显著降低肝脏NF- κ B增强表达的趋势,显示出落新妇可能通过抑制NF- κ B炎症反应通路发挥对肝脏IRI的保护作用。

4 参考文献

- 1 Ben-Ari Z, Issan Y, Katz Y, Sultan M, Safran M, Michal LS, Nader GA, Kornowski R, Grief F, Pappo O, Hochhauser E. Induction of heme oxygenase-1 protects mouse liver from apoptotic ischemia/reperfusion injury. *Apoptosis* 2013; 18: 547-555 [PMID: 23435964 DOI: 10.1007/s10495-013-0814-x]
- 2 慕宁, 江艺, 张绍庚, 陈少华, 吕立志, 张坤, 杨芳, 张小进, 蔡秋程, 潘凡. 落新妇对肝缺血再灌注损伤的保护作用. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 865-869
- 3 慕宁, 王海梁, 傅宏, 林峰, 施晓敏, 邹绍武, 王全兴, 傅志仁. 落新妇通过促进IL-10表达保护小鼠缺血再灌注损伤肝脏. *第二军医大学学报* 2008; 12: 1429-1432
- 4 Zhai Y, Shen XD, O'Connell R, Gao F, Lassman C, Busuttil RW, Cheng G, Kupiec-Weglinski JW. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004; 173: 7115-7119 [PMID: 15585830]
- 5 Tsung A, Hoffman RA, Izuishi K, Critchlow ND, Nakao A, Chan MH, Lotze MT, Geller DA, Billiar TR. Hepatic ischemia/reperfusion injury involves functional TLR4 signaling in nonparenchymal cells. *J Immunol* 2005; 175: 7661-7668 [PMID: 16301676]
- 6 Uchida Y, Ke B, Freitas MC, Yagita H, Akiba H, Busuttil RW, Najafian N, Kupiec-Weglinski JW. T-cell immunoglobulin mucin-3 determines severity of liver ischemia/reperfusion injury in mice in a TLR4-dependent manner. *Gastroenterology* 2010; 139: 2195-2206 [PMID: 20637206 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.003]
- 7 Wang J, Zhao Y, Xu Q. Astilbin prevents concanavalin A-induced liver injury by reducing TNF-alpha production and T lymphocytes adhesion. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 495-502 [PMID: 15104095]
- 8 Tsuchihashi S, Zhai Y, Bo Q, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Heme oxygenase-1 mediated cytoprotection against liver ischemia and reperfusion injury: inhibition of type-1 interferon signaling. *Transplantation* 2007; 83: 1628-1634 [PMID: 17589347]
- 9 Sun K, Chen Y, Liang SY, Liu ZJ, Liao WY, Ou ZB, Tu B, Gong JP. Effect of taurine on IRAK4 and NF-kappa B in Kupffer cells from rat liver grafts after ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2012; 204: 389-395 [PMID: 22771449 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.10.020]
- 10 Xia Y, Rao J, Yao A, Zhang F, Li G, Wang X, Lu L. Lithium exacerbates hepatic ischemia/reperfusion injury by inhibiting GSK-3 β /NF- κ B-mediated protective signaling in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 697: 117-125 [PMID: 23051669 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.09.009]
- 11 Shi J, Li XH, Sun BC, Lin XT, Zhang XY, Zhang F, Ou K, Chen QP. [Protective functions of recombinant protein targeted at RANKL against hepatic ischemia/reperfusion injury transfected by retrovirus in mice]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2011; 91: 2719-2724 [PMID: 22321985]
- 12 Yun N, Kang JW, Lee SM. Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1249-1255 [PMID: 22209001 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.018]
- 13 Muratore A, Ribero D, Ferrero A, Bergero R, Capusotti L. Prospective randomized study of steroids in the prevention of ischaemic injury during hepatic resection with pedicle clamping. *Br J Surg* 2003; 90: 17-22 [PMID: 12520569]

■同行评价

本文内容较新颖,具有一定的应用价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ZIC1和P130在胆管细胞癌中表达及其临床意义

邓昌林, 许辉, 谢明, 邹文俊, 周淑蓉

■背景资料

锌指蛋白1(zic-family member 1, ZIC1)是ZIC 5个家族成员之一, 转录产物为含5个C2H2型锌指区域的转录因子, 可以结合一些富含GC序列的靶基因并形成共同作用的“复合体”, 从而影响靶基因的转录过程。P130是视网膜母细胞瘤基因家族成员之一, 在细胞周期的不同阶段发挥负调控功能, 将正在分裂的细胞阻滞于G₁期。P130通常与转录因子结合, 阻止后者的转录活性。P130功能的丧失使转录活性失控, 为正常细胞的癌变及肿瘤细胞的失控增殖创造了条件。

邓昌林, 许辉, 邹文俊, 周淑蓉, 中国人民解放军第四二二医院普外科 广东省湛江市 524005

谢明, 中国人民解放军第四二二医院病理科 广东省湛江市 524005

邓昌林, 主治医师, 主要从事腹部外科及腹部肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题设计、数据分析及论文写作均由邓昌林独立完成; 研究资金及课题指导由许辉提供; 研究所用试剂与病理图片由谢明提供; 研究过程由邓昌林、许辉、谢明、邹文俊及周淑蓉共同完成。

通讯作者: 邓昌林, 主治医师, 524005, 广东省湛江市海滨三路40号, 中国人民解放军第四二二医院普外科。

dengclpp@163.com

收稿日期: 2013-08-20 修回日期: 2013-11-18

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2013-12-18

Clinical significance of expression of ZIC1 and P130 in cholangiocarcinoma

Chang-Lin Deng, Hui Xu, Ming Xie, Wen-Jun Zou, Shu-Rong Zhou

Chang-Lin Deng, Hui Xu, Wen-Jun Zou, Shu-Rong Zhou, Department of General Surgery, 422nd Hospital of PLA, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China

Ming Xie, Department of Pathology, 422nd Hospital of PLA, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China

Correspondence to: Chang-Lin Deng, Attending Physician, Department of General Surgery, 422nd Hospital of PLA, 40 Haibin Road, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China. dengclpp@163.com

Received: 2013-08-20 Revised: 2013-11-18

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of zicfamily member 1 (ZIC1) and P130 in cholangiocarcinoma and their correlation with the biological behavior of cholangiocarcinoma.

METHODS: The protein expression of ZIC1 and P130 was detected by immunohistochemistry in 43 cases of cholangiocarcinoma and 20 cases of normal bile duct tissue.

RESULTS: The positive rate of ZIC1 expression was significantly higher in cholangiocarcinoma than in normal bile duct tissue (53.49% vs 25.00%, $P < 0.05$). The positive rate of P130 expression in cholangiocarcinoma was significantly lower than that in normal bile duct tissue (55.81

vs 85.00%, $P < 0.05$). The expression of ZIC1 and P130 protein was related to pathological grade and neoplasm metastasis (both $P < 0.05$), but not to sex or Nevin stage (both $P > 0.05$). There was a negative correlation between ZIC1 and P130 expression ($r = -0.360$, $P < 0.05$) in cholangiocarcinoma. The expression of ZIC1 and P130 proteins was related to the 3-year survival rate (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The abnormal expression of ZIC1 and P130 proteins may be involved in the development and progression of cholangiocarcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Zicfamily member 1; P130; Immunohistochemistry

Deng CL, Xu H, Xie M, Zou WJ, Zhou SR. Clinical significance of expression of ZIC1 and P130 in cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4024-4029 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4024.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4024>

摘要

目的: 探讨锌指蛋白1(zicfamily member 1, ZIC1)和P130蛋白在胆管细胞癌组织中的表达及其与胆管细胞癌生物学行为的关系。

方法: 应用免疫组织化学SP法检测43例胆管细胞癌和20例正常胆管上皮组织中ZIC1和P130蛋白的表达情况。

结果: 胆管细胞癌组织中ZIC1的表达显著高于正常胆管组织(53.49% vs 25.00%, $P < 0.05$), P130表达显著低于正常胆管组织(55.81% vs 85.00%, $P < 0.05$); ZIC1和P130蛋白在胆管细胞癌中的表达与病理分级和是否转移相关($P < 0.05$), 与患者性别、Nevin分期不相关($P > 0.05$); ZIC1和P130蛋白表达呈明显负相关($r = -0.360$, $P < 0.05$); ZIC1和P130蛋白在胆管细胞癌中的表达与3年生存率有明显差异($P < 0.05$)。

■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

结论: ZIC1和P130蛋白的异常表达在胆管细胞癌发生发展中具有重要意义, 多个指标联合检查用来估计患者预后指导意义更佳。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆管细胞癌; 锌指蛋白1; P130; 免疫组织化学

核心提示: 胆管细胞癌的发病率和死亡率快速上升, 寻找有效的肿瘤生物学标志物是提高胆管细胞癌患者的早期诊断、治疗的一条有效途径, 近年来与细胞周期相关的蛋白成为研究热点。转录调控因子锌指蛋白1(zicfamilymember1, ZIC1)和视网膜母细胞瘤基因家族P130在多种恶性肿瘤的细胞周期增殖、分化中发挥重要作用, 联合检测P130及ZIC1抗原有助于筛选高危患者, 可能为今后胆管细胞癌的治疗提供了一个新的靶点。

邓昌林, 许辉, 谢明, 邹文俊, 周淑蓉. ZIC1和P130在胆管细胞癌中表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4024-4029
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4024.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4024>

0 引言

近年来, 世界范围内胆管细胞癌的发病率和死亡率快速上升, 与肝细胞癌相比其更容易发生淋巴结转移及术后复发, 临床上难于早期发现^[1]。尽管其治疗方法已经由单一的手术治疗发展到今天的手术加放疗和化疗等综合疗法, 但患者的预后并没有明显的改善。寻找有效的肿瘤生物学标志物是提高胆管细胞癌患者的早期诊断、治疗的一条有效途径, 近年来与细胞周期相关的蛋白成为研究热点。转录调控因子锌指蛋白1(zicfamilymember1, ZIC1)和视网膜母细胞瘤基因家族P130在多种恶性肿瘤的细胞周期增殖、分化中发挥重要作用^[2,3]。本文通过应用免疫组织化学方法对43例胆管细胞癌和20例正常胆管上皮组织中进行研究, 以探讨ZIC1和P130在胆管细胞癌组织中的表达情况和预后关系, 为临床判断胆管细胞癌恶性程度、选择治疗措施及评价预后提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择自2001-01/2009-12在我院普通外科住院并行手术治疗的胆管细胞癌患者资料, 选择其中病理确诊、临床资料较完整的43例胆管细胞癌及同期20例经病理证实的正常胆管组织标本(取自其他良性疾病行胆管切除者)作为

正常对照, 标本均行免疫组织化学研究。病程为1 mo-2年不等, 术前均未经放、化疗, 无糖尿病及甲亢等疾病。患者年龄为22-63岁, 中位年龄为55岁, 其中男性23例, 女性20例; 临床病理分期按Nevin法: I-III级28例, IV-V级15例; 淋巴结或其他器官转移的21例, 无转移的22例; 组织学分化程度: 高分化20例, 中-低分化23例, 全部病例跟踪随访, 并以3年生存率作为反映预后的指标。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 标本经40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋, 3 μ m连续切片, ZIC1和P130单克隆即用型抗体和S-PKits均购自上海长岛生物技术公司产品, 常规SP法染色: 每张切片加1滴过氧化物酶阻断溶液, 以消除内源性过氧化物酶的活性, 室温孵化10 min, PBS液冲洗3 min \times 3 min; 热抗原修复处理, PBS液冲洗3 min \times 3 min; 加非免疫动物血清, 室温孵育10 min, 以减少非特异性背景; 倾去血清, 勿洗, 滴加1滴一抗ZIC1和P130, 室温孵育60 min, PBS液冲洗3 min \times 3 min; 每张切片滴加1滴生物素标记的二抗, 室温孵育15 min, PBS液冲洗3 min \times 3 min; 甩去PBS液, 每张切片滴加1滴链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 室温孵育15 min, PBS液冲洗3 min \times 3 min; DAB显色, 苏木素复染, 脱水, 干燥, 透明, 中性树脂封固, 光学显微镜观察, DAB显色。以已知ZIC1和P130阳性组织切片作为阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定: ZIC1和P130的阳性表达结果判定: 阳性细胞表现为细胞核出现棕黄色颗粒, 瘤细胞无棕色颗粒者为阴性(-)。随机观察10个高倍镜视野, 计算1000个瘤组织中阳性染色细胞所占的比例, 按阳性细胞所占百分比并参考着色强度判断分级: 无明显着色阳性细胞为(-), 阳性细胞数>10%为阳性(+).

1.2.3 随访结果: 全部43例胆管细胞癌患者随访调查发现, 其中3年内死亡25例, 3年存活18例。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对所得数据进行统计分析, 组间数据用 χ^2 检验, 相关分析用Spearman等级相关分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ZIC1和P130在胆管细胞癌和正常胆管上皮组织中的表达情况(表1) 43例胆管细胞癌中ZIC1阳性表达者23例(阳性率53.49%)(图1A), 在20例正常胆管上皮中表达5例(阳性率25.00%),

■ 研究前沿

近年来, 世界范围内胆管细胞癌的发病率和死亡率快速上升, 与肝细胞癌相比其更容易发生淋巴结转移及术后复发, 临床上难于早期发现。寻找有效的肿瘤生物学标志物是提高胆管细胞癌患者的早期诊断、治疗的一条有效途径, 近年来与细胞周期相关的蛋白成为研究热点。转录调控因子ZIC1和视网膜母细胞瘤基因家族P130在多种恶性肿瘤的细胞周期增殖、分化中发挥重要作用。

■ 相关报道

国内外对ZIC1的作用研究多集中在胃肠道方面的肿瘤,而对其在胆管细胞癌中的表达及作用机制则未见相关文献报道;而P130的报道在食管癌,子宫内腺癌,前列腺癌及涎腺肿瘤中均见报道,在肝肿瘤中只与肝细胞的报道,未在胆管细胞癌中的报道。

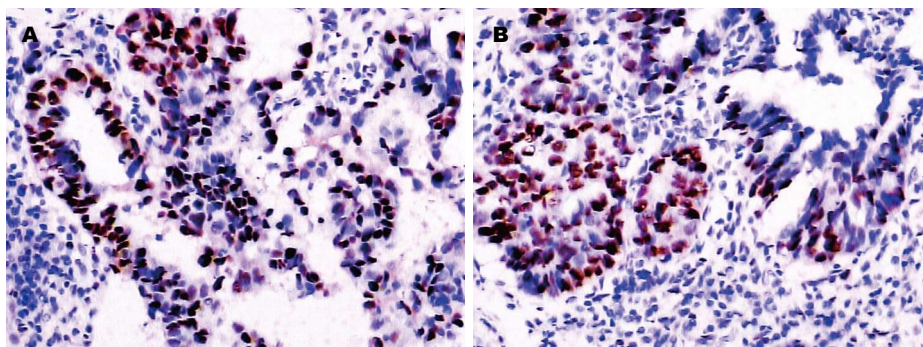


图1 胆管细胞癌组织中锌指蛋白1及P130的表达(SP法×200)。A: 锌指蛋白1在胆管细胞癌中组织中的表达; B: P130在胆管细胞癌中组织中的表达。

表1 锌指蛋白1和P130在胆管细胞癌和正常胆管上皮组织中的表达

组织类别	n	锌指蛋白1的表达			P130的表达		
		+	阳性率(%)	P值	+	阳性率(%)	P值
胆管细胞癌	43	23	53.49		24	55.81	
正常胆管上皮组织	20	5	25.00	0.034	17	85.00	0.048

两者有显著性差异($P<0.05$); 43例胆管细胞癌中P130阳性表达者24例(55.81%)(图1B), 在20例正常胆管上皮中表达17例(阳性率85.00%), 两者有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 胆管细胞癌患者临床病理特征与ZIC1和P130蛋白表达的关系 43例胆管细胞癌中ZIC1和P130蛋白表达率均与胆管细胞癌的病理分化程度和淋巴结或器官转移相关, ZIC1蛋白的表达率中-低分化组明显高于高分化组, 有淋巴结或器官转移的表达率高于无淋巴结或器官转移的, 两者差别均有显著性差异($P<0.05$); P130蛋白中-低分化组表达率明显低于高分化组, 有淋巴结或器官转移的表达率低于无淋巴结或器官转移的, 两者差别均有显著性差异($P<0.05$); P130和ZIC1蛋白表达均与患者性别和Nevin分期大小不相关($P>0.05$)(表2)。

2.3 胆管细胞癌中蛋白ZIC1和P130蛋白表达的相关性 应用Spearman等级相关分析分析ZIC1和P130蛋白表达的相关性, 24例P130阳性表达的胆管细胞癌中, ZIC1表达阴性者15例; 19例P130阴性表达的胆管细胞癌中, ZIC1表达阳性者14例。结果显示相关系数 $r = -0.360$, $P = 0.018$, 提示P130蛋白和ZIC1蛋白表达呈负相关($P<0.05$, 表3)。

2.4 胆管细胞癌患者ZIC1蛋白和P130蛋白表达与肿瘤预后关系 43例胆管细胞癌患者随访调查发现, 其中3年内死亡25例, 3年存活18例。

ZIC1蛋白阳性表达组死亡率为68.00%, 明显高于阴性表达组(33.33%, $P<0.05$); P130蛋白阳性表达组死亡率为40.00%, 明显低于阴性表达组(77.78%, $P<0.05$, 表4)。

3 讨论

ZIC1是ZIC 5个家族成员之一, 转录产物为含5个C2H2型锌指区域的转录因子, 可以结合一些富含GC序列的靶基因并形成共同作用的“复合体”, 从而影响靶基因的转录过程。Cornish等^[4]在筛选ZIC1下游靶基因的研究中发现, ZIC1上调水通道蛋白(aquaglyceroporin, aqp-3b)的转录, 而后者与细胞黏附有关, 且其表达量与肿瘤恶性程度有直接关系, 并可增强肿瘤的侵袭和转移能力。近年来, 越来越多的证据表明在多种肿瘤的进展中发挥重要作用^[5-9]。目前, 对于ZIC1在某些类型的癌中异常表达是作为一种肿瘤抑制基因还是致癌基因意见不一。一方面, 某些报道在胃肠道癌中ZIC1为低表达或缺失^[8,9]; 相反, 部分研究表明在脂肪肉瘤中ZIC1高表达促进肿瘤的增殖和侵犯^[5]。目前国内胆管细胞癌ZIC1表达尚未见到相关报道。在本研究中发现, ZIC1蛋白的表达率癌组织明显高于正常胆管上皮, 分化差的肿瘤表达率高于分化好的肿瘤, 均有显著性差异($P<0.05$); 另外ZIC1阳性表达率高的胆管细胞癌患者与阳性率低者相比, 淋巴结或器官转移率高, 术后死亡率率较高, 预后差, 这一结果

表 2 胆管细胞癌患者临床病理特征与ZIC1和P130蛋白表达的关系

临床病理特征	n	ZIC1的表达			P130的表达		
		阳性	阳性率(%)	P值	阳性	阳性率%	P值
性别				0.853			0.258
男	23	12	52.17		11	47.83	
女	20	11	55.00		13	65.00	
Nevin分期				0.205			0.294
I-III级	28	13	46.43		14	50.00	
IV-V级	15	10	66.67		10	66.67	
淋巴结或其他器官转移				0.021			0.022
有	21	15	71.43		8	38.09	
无	22	8	36.37		16	72.73	
病理分级				0.023			0.018
高分化	20	7	35.00		15	75.00	
中-低分化	23	16	69.57		9	39.13	

ZIC1: 锌指蛋白1.

表 3 胆管细胞癌患者ZIC1蛋白和P130蛋白表达的相关性

	P130阳性	P130阴性	r值	P值
ZIC1阳性	9	14	-0.360	0.018
ZIC1阴性	15	5		

ZIC1: 锌指蛋白1.

与Brill等^[5]学者研究类似. 这些研究说明ZIC1在胆管细胞癌的发展、浸润和转移过程中发挥了重要作用.

P130是视网膜母细胞瘤基因家族成员之一, 是抑癌基因*Rb*的一种蛋白表达产物^[10,11], 其与pRb、p107 3者共同组成了视网膜母细胞瘤家族(*Rb*家族)蛋白, 其机制是3种蛋白的结构和功能相似作用相互补充, 在细胞周期的进行中, 通过对转录因子E2F家族成员活性的调节, 在细胞周期的不同阶段发挥负调控功能, 将正在分裂的细胞阻滞于G₁期^[12]. P130通常与转录因子E2F家族成员结合, 阻止后者的转录活性. 在G₁期, 活化的Cdk4通过对P130的磷酸化, 使P130与E2F分离, 受E2F抑制的基因开始转录、表达. P130功能的丧失使E2F的转录活性失控, 为正常细胞的癌变及肿瘤细胞的失控增殖创造了条件. 国内外学者研究表明, *P130*是一个典型的抑癌基因, 在人体内的各种正常组织中有广泛的表达, 而其发生突变或缺失与人类多种肿瘤的发生、发展密切相关, 在多种恶性肿瘤如食管鳞癌^[13]、

涎腺腺样囊性癌^[14]、前列腺癌^[15]等呈低表达, 而在胆管细胞癌中的研究相关文献罕见. 本研究结果显示, P130蛋白中-低分化组表达率明显低于高分化组, 有淋巴结或器官转移的表达率低于无淋巴结或器官转移的, 经统计学检验, 均具有显著性差异($P<0.05$). 这些结果均提示, P130的失活促进了胆管细胞癌的恶性增殖及转移, P130阴性表达的胆管细胞癌患者预后差, 这与苏赓等学者研究其他肿瘤的效果类似^[14], 提示P130蛋白高表达对胆管上皮细胞的异常增殖、胆管细胞癌发生淋巴结转移有阻抑作用; P130蛋白低表达则可能解除其抑制细胞生长的作用, 导致细胞异常增殖, 发生恶性转化, 并局部浸润和侵犯. 因此认为P130的缺失可作为早期肿瘤发生的预兆.

另外本研究发现胆管细胞癌中ZIC1与P130在胆管细胞癌中的表达呈负相关($r = -0.360, P<0.05$). 有研究表明^[16,17], ZIC1可以参与调控某些细胞周期蛋白来调节细胞增殖和凋亡, 从而促进肿瘤形成, 而与细胞周期蛋白密切相关的P130蛋白能够调节E2F转录调节因子家族的活性, 而E2F是许多与G₁/S过渡有关的基因表达所需要的, 这些基因之中就可能包括ZIC1的作用, 我们推测可能的机制是在胆管细胞癌和癌前发生阶段即存在P130表达的缺失, 也存在ZIC1蛋白的异常高表达, 高ZIC1环境和P130表达的缺失两种因素下, 使得细胞周期失控, 促进了细胞的生长和肿瘤的发展, 是胆管细胞癌的

■创新盘点

胆管细胞癌中, 应用转录基因和抑癌基因的结合来推测临床生物学行为及预后, 在国内外属于少见. 联合检测P130及ZIC1抗原有助于筛选高危患者, 为胆管细胞癌患者提供确实有效的、个体化的治疗方案提高一定的参考价值和新途径.

■应用要点

ZIC1在胆管细胞癌表达增高, P130在胆管细胞癌表达降低; P130功能的丧失使ZIC1的转录活性失控, 为正常细胞的癌变及肿瘤细胞的失控增殖创造了条件; ZIC1与P130在胆管细胞癌中的表达呈负相关关系, 表明两者存在调节机制, 联合检测P130及ZIC1抗原有助于筛选高危患者, 可能为今后胆管细胞癌的治疗提供了一个新的靶点。

表 4 胆管细胞癌患者ZIC1蛋白和P130蛋白表达与肿瘤预后关系

3年内是否存活	n	ZIC1表达情况			P130 表达情况		
		阳性	阳性率(%)	P值	阳性	阳性率(%)	P值
死亡	25	17	68.00	0.025	10	40.00	0.032
存活	18	6	33.33		14	77.78	

ZIC1: 锌指蛋白1。

发生、发展中的重要事件。至于其更高层次的分子机制, 有待于进一步深入研究。

总之, P130蛋白低表达或者ZIC1蛋白高表达的胆管细胞癌患者, 肿瘤分化差, 增殖侵袭和转移能力强, 恶性程度高, 术后预后差; 联合检测P130及ZIC1抗原有助于筛选高危患者, 至于能否根据ZIC1和P130蛋白的异常表达为胆管细胞癌患者提供确实有效的、个体化的治疗方案还有待于进一步的临床实践研究。

4 参考文献

- 李彦旭, 柴新群, 童玲, 冯贤松. Twist、E-cadherin在胆管细胞癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2744-2747
- Rodríguez-Rodero S, Fernández AF, Fernández-Morera JL, Castro-Santos P, Bayon GF, Ferrero C, Urdinguio RG, Gonzalez-Marquez R, Suarez C, Fernández-Vega I, Fresno Forcelledo MF, Martínez-Cambor P, Mancikova V, Castelblanco E, Perez M, Marrón PI, Mendiola M, Hardisson D, Santisteban P, Riesco-Eizaguirre G, Matías-Guiu X, Carnero A, Robledo M, Delgado-Álvarez E, Menéndez-Torre E, Fraga MF. DNA methylation signatures identify biologically distinct thyroid cancer subtypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 2811-2821 [PMID: 23666970 DOI: 10.1210/jc.2012-3566]
- Okamura K, Miki D, Nohara K. Inorganic arsenic exposure induces E2F-dependent G0/G1 arrest via an increase in retinoblastoma family protein p130 in B-cell lymphoma A20 cells. *Genes Cells* 2013; 18: 839-849 [PMID: 23890198 DOI: 10.1111/gtc.12079]
- Cornish EJ, Hassan SM, Martin JD, Li S, Merzdorf CS. A microarray screen for direct targets of Zic1 identifies an aquaporin gene, aqp-3b, expressed in the neural folds. *Dev Dyn* 2009; 238: 1179-1194 [PMID: 19384961 DOI: 10.1002/dvdy.21953]
- Brill E, Gobble R, Angeles C, Lagos-Quintana M, Crago A, Laxa B, Decarolis P, Zhang L, Antonescu C, Socci ND, Taylor BS, Sander C, Koff A, Singer S. ZIC1 overexpression is oncogenic in liposarcoma. *Cancer Res* 2010; 70: 6891-6901 [PMID: 20713527 DOI: 10.1158/0008-5472]
- Pourebahram R, Van Dam K, Bauters M, De Wever I, Sciort R, Cassiman JJ, Tejpar S. ZIC1 gene expression is controlled by DNA and histone methylation in mesenchymal proliferations. *FEBS Lett* 2007; 581: 5122-5126 [PMID: 17936758 DOI: 10.1016/j.febslet.2007.09.061]
- Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Yim SF, Siu NS, Chan SC, Ho TW, Wong KW, Yu MY, Wang VW, Li C, Gardner GJ, Bonome T, Johnson WB, Smith DI, Chung TK, Birrer MJ. Identification of molecular markers and signaling pathway in endometrial cancer in Hong Kong Chinese women by genome-wide gene expression profiling. *Oncogene* 2007; 26: 1971-1982 [PMID: 17043662 DOI: 10.1038/sj.onc.1209986]
- Gan L, Chen S, Zhong J, Wang X, Lam EK, Liu X, Zhang J, Zhou T, Yu J, Si J, Wang L, Jin H. ZIC1 is downregulated through promoter hypermethylation, and functions as a tumor suppressor gene in colorectal cancer. *PLoS One* 2011; 6: e16916 [PMID: 21347233 DOI: 10.1371/journal.pone.0016916]
- Wang LJ, Jin HC, Wang X, Lam EK, Zhang JB, Liu X, Chan FK, Si JM, Sung JJ. ZIC1 is downregulated through promoter hypermethylation in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379: 959-963 [PMID: 19135984 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.12.180]
- D'Andrilli G, Masciullo V, Bagella L, Tonini T, Minimo C, Zannoni GF, Giuntoli RL, Carlson JA, Soprano DR, Soprano KJ, Scambia G, Giordano A. Frequent loss of pRb2/p130 in human ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3098-3103 [PMID: 15131049 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0524]
- Claudio PP, Russo G, Kumar CA, Minimo C, Farina A, Tutton S, Nuzzo G, Giuliani F, Angeloni G, Maria V, Vecchio FM, Campi CD, Giordano A. pRb2/p130, vascular endothelial growth factor, p27(KIP1), and proliferating cell nuclear antigen expression in hepatocellular carcinoma: their clinical significance. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3509-3517 [PMID: 15161709 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0662]
- Classon M, Dyson N. p107 and p130: versatile proteins with interesting pockets. *Exp Cell Res* 2001; 264: 135-147 [PMID: 11237530 DOI: 10.1006/excr.2000.5135]
- Nozoe T, Korenaga D, Itoh S, Futatsugi M, Maehara Y. Clinicopathological significance of pRb2/p130 expression in squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 691-696 [PMID: 12474056 DOI: 10.1007/s00432-002-0395-5]
- 苏赓, 莫秋荣, 温伟. 涎腺腺样囊性癌中CyclinD1、MMP-7和PRB2/P130表达及对预后的意义. 临床与实验病理学杂志 2013; 29: 36-39
- Bohrer LR, Chen S, Hallstrom TC, Huang H. Androgens suppress EZH2 expression via retinoblastoma (RB) and p130-dependent pathways: a potential mechanism of androgen-refractory progression of prostate cancer. *Endocrinology* 2010; 151: 5136-5145 [PMID: 20881251 DOI: 10.1210/en.2010-0436]
- Aruga J. The role of Zic genes in neural develop-

- ment. *Mol Cell Neurosci* 2004; 26: 205-221 [PMID: 15207846 DOI: 10.1016/j.mcn.2004.01.004]
- 17 Milet C, Maczkowiak F, Roche DD, Monsoro-Burq AH. Pax3 and Zic1 drive induction and differen-

tiation of multipotent, migratory, and functional neural crest in *Xenopus* embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 5528-5533 [PMID: 23509273 DOI: 10.1073/pnas.1219124110]

■同行评价

本文总体设计科学, 结果、结论可靠, 在基础研究和临床应用方面具有重要的意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成t_{1/2}或T_{1/2}¹, V_{max}不能写Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.*var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ, Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒肠炎的意义

金晓荔, 罗晓明

■背景资料

对于婴幼儿轮状病毒肠炎, 目前仍无特效的治疗方法, 多以对症、补液支持治疗为主。补锌疗法是否对于轮状病毒肠炎有确切疗效, 有待研究。

金晓荔, 温州医科大学第二临床医学院 浙江省温州市 325035

罗晓明, 浙江省人民医院儿科 浙江省杭州市 310014

金晓荔, 2011级硕士研究生, 主要从事儿科学的研究。

作者贡献分布: 金晓荔与罗晓明对此文所作贡献均等; 此课题由金晓荔与罗晓明设计; 研究过程由金晓荔与罗晓明操作完成; 数据分析由金晓荔完成; 论文写作由金晓荔与罗晓明完成。

通讯作者: 罗晓明, 教授, 310014, 浙江省杭州市下城区上塘路158号, 浙江省人民医院儿科。lxm_cc@sina.com

电话: 0571-85893626

收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-10-21

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Significance of zinc supplementation in infants with rotavirus enteritis

Xiao-Li Jin, Xiao-Ming Luo

Xiao-Li Jin, the Second Clinical Medical College, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang Province, China

Xiao-Ming Luo, Department of Pediatrics, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Xiao-Ming Luo, Professor, Department of Pediatrics, Zhejiang Provincial Hospital, 158 Shangtang Road, Under the District, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China. lxm_cc@sina.com

Received: 2013-09-08 Revised: 2013-10-21

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To explore the therapeutic effect and significance of zinc preparation in infants with rotavirus enteritis.

METHODS: One hundred and three patients with rotavirus enteritis were randomly and equally divided into either a treatment group or a control group. Both groups were given conventional treatment, and the treatment group was additionally given zinc gluconate. The therapeutic effect and hospital stay were observed.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (80% vs 63.08%, $P < 0.05$). Length of hospital stay was significantly shortened in the treatment group compared to the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Zinc supplementation is effective in the treatment of infantile rotavirus diarrhea and can obviously shorten the length of hospital stay.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Zinc supplementation; Rotavirus enteritis; Curative effect; Significance

Jin XL, Luo XM. Significance of zinc supplementation in infants with rotavirus enteritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4030-4033 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4030.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4030>

摘要

目的: 探讨补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒肠炎的临床疗效和意义。

方法: 将130例轮转病毒肠炎患儿随机分为治疗组和对照组, 各65例。两组均按照常规治疗, 治疗组在此基础上加用葡萄糖酸锌片, 观察并比较两组疗效及住院时间。

结果: 治疗组总有效率为80%明显高于对照组总有效率的63.08%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗组的住院时间(5.08 ± 1.41 d)较对照组(6.21 ± 1.03 d)明显缩短, 差异也有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒肠炎疗效确切, 并且可明显缩短住院时间, 在一定时间内减少肠炎复发。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 补锌; 轮状病毒肠炎; 疗效; 意义

核心提示: 补锌不但能够缩短轮状病毒肠炎患儿的病程, 而且可以在一定时间内预防腹泻的复发。

金晓荔, 罗晓明. 补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒肠炎的意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21(35): 4030-4033 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4030.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4030>

■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

0 引言

轮状病毒(rotavirus, RV)肠炎是秋、冬季婴幼儿腹泻最常见的病原, 故曾被称为秋季腹泻。经粪-口传播, 也可通过气溶胶形式经呼吸道感染而致病^[1]。他多发生于6-24 mo的婴幼儿, 起病急, 病初多表现为发热、呕吐、腹泻, 后可并发不同程度脱水、代谢性酸中毒及电解质紊乱。严重者可导致肝炎、心肌炎、肾炎、脑炎、弥散性血管内凝血等各种肠道外疾病, 对婴幼儿健康产生严重影响^[2]。本病多为自限性, 自然病程3-8 d。因为RV型别多, 交叉保护性差, 目前尚无有效的预防和治疗方法。RV感染多以对症、补液支持治疗为主^[3]。近年来, 有报道表明, 锌对肠黏膜的修复是必需的营养物质, 补锌能够缩短腹泻病程、减轻腹泻的严重程度, 而且能够降低以后2-3 mo腹泻的再发生^[4]。本研究旨在探讨应用葡萄糖酸锌片对于婴幼儿轮状病毒肠炎的疗效和意义, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-09/2013-03浙江省人民医院儿科住院部收治的130例急性轮状病毒肠炎患儿(患儿的病情、治疗用药等情况均已明确告知患儿家属, 并在家属同意下用药)。男79例, 女51例, 年龄6-40 mo。酶联免疫吸附试验检测粪便轮状病毒均显示阳性, 大便为黄色稀水样或蛋花汤样便, 量不等, 无黏液脓血, 无腥臭味, 大便常规检查发现31%的患儿大便中可见有白细胞, 大便细菌培养未见致病菌。发病初期基本均有发热和呕吐, 合并轻度脱水63例, 中度脱水16例, 酸中毒4例, 电解质紊乱6例。将所有患儿随机分为治疗组和对照组, 各65例。两组在腹泻程度、脱水、酸中毒程度、病程、年龄、体质量、喂养方式等方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组给予肠黏膜保护剂如蒙脱石粉, 补液以纠正脱水、酸中毒和电解质紊乱, 合理饮食等常规治疗。治疗组在上述基础上予以补充葡萄糖酸锌片(广州白云山侨光制药有限公司生产, 规格: 每片70 mg)。根据国内外儿科专家共识, 急性腹泻患儿能进食后即予以补锌治疗, >6 mo的患儿, 每天补充含元素锌20 mg, <6 mo婴儿每日补充元素锌10 mg, 疗程共10-14 d。元素锌20 mg相当于硫酸锌100 mg, 葡萄糖酸锌140 mg^[5,6]。对于治疗组患儿, 因其年龄均 >6 mo, 故每天补充葡萄糖酸锌片140 mg(每次70 mg, 每

天2次)。

1.2.2 疗效判定: 根据《中国腹泻病诊断治疗方案》的疗效标准分为3级。显效: 治疗72 h粪便性状及次数恢复正常, 全身症状消失。有效: 治疗72 h粪便性状及次数明显好转, 全身症状明显改善。无效: 治疗72 h粪便性状次数及全身症状无明显好转甚至恶化^[7]。总有效率 = (显效+有效)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 随访: 随访3 mo, 比较治疗组和观察组腹泻的复发率。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行数据处理分析, 计量资料用mean \pm SD表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料用率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效及住院天数比较 治疗组总有效率明显高于对照组总有效率(80.00% vs 63.08%, $P<0.05$), 差异有统计学意义。治疗组的住院时间较对照组明显缩短, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 不良反应 治疗组在治疗过程中未发现不良反应。

2.3 随访 随访3 mo补锌治疗组再次发生腹泻5例, 占7.69%, 对照组再次发生腹泻20例, 占30.77%, 对照组较治疗组再次发生腹泻率高, 两组差异有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

人类轮状病毒(human rotavirus, HRV)是引起世界范围内婴幼儿腹泻的主要病原。他包括7组病毒, 其中最常见的是A组病毒, 主要感染婴幼儿^[8]。据WHO统计, 全世界每年大约有1.11亿5岁以下儿童患HRV腹泻, 约有453000例儿童死于HRV感染, 占全球5岁以下儿童总死亡人数的5%^[9]。轮状病毒作为一种肠道病毒, 对十二指肠及空肠近端黏膜上皮细胞具有特异的感染性。他与上皮细胞结合, 使绒毛膜变短变粗, 细胞肿胀、空泡变性坏死, 最后使具有吸收功能和富含双糖酶的小肠微绒毛顶端被破坏呈斑点状病灶, 引起其吸收功能障碍和双糖酶不足及其活性下降, 使小肠分泌增加, 钠转运功能降低, 减少对电解质及水分的吸收, 最终因未吸收的肠液和食物中消化不全的糖类积滞肠腔内, 继发肠液的渗透压增高引起渗透性腹泻。同时还破坏肠道内微生态系统, 导致肠黏膜的屏障功能与拮抗作

■ 研发前沿

补锌疗法对于缩短婴幼儿轮状病毒肠炎的病程及减少其复发率是否效果明显, 以及适于补锌的患儿年龄及相应的补锌量尚存在争议。

■创新盘点

本文不仅研究补锌疗法可以缩短婴幼儿轮状病毒肠炎的病程,还对患儿进行了随访,进一步探讨补锌疗法是否可以减少肠炎的复发率和发病率。

表 1 两组患儿临床疗效及住院天数比较 ($n = 65$)

分组	显效 $n(\%)$	有效 $n(\%)$	无效 $n(\%)$	总有效率 $(\%)$	平均住院时间 (d)
治疗组	23(35.38)	29(44.62)	13(20)	80.00 ^a	5.08 ± 1.41 ^a
对照组	16(24.62)	25(38.46)	24(36.92)	63.08	6.21 ± 1.03

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 2 两组患儿3 mo内复发腹泻率比较 ($n = 65$)

分组	复发 (n)	复发率 $(\%)$
治疗组	5	7.69 ^a
对照组	20	30.77

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

用失衡,促使腹泻加重,导致脱水、酸中毒及电解质紊乱等。HRV不仅可以引起肠道内感染,而且在肠道外其他器官也可以引起感染^[10]。Fuchigami等^[11]研究报道HRV可通过胃肠屏障引起病毒血症,从而导致全身多器官包括中枢神经系统、呼吸、心脏、肝胆、血液等病变。严重者导致中毒性休克和死亡。

目前,针对轮状病毒肠炎尚无特效治疗方法,主要采取口服微生态制剂及肠黏膜保护剂,纠正脱水及代谢性酸中毒,维持电解质的平衡等。近年来,一系列研究报道证实,锌缺乏与儿童腹泻、肺炎等感染性疾病之间存在高度相关性^[12]。世界卫生组织和联合国儿童基金会也早在2002年就已经将补锌治疗措施纳入全球儿童腹泻病的治疗方案中。

锌是人体内必需的微量元素,也是人体内多种酶的辅酶成分。锌与婴幼儿的生长发育、防御机制、免疫功能及某些疾病的发生发展密切相关^[13]。所以锌的缺乏可导致机体多种生理功能紊乱,如引起食欲不振、味觉减退、反复感染、皮炎、体格及性发育延迟等^[14]。而消化功能紊乱也是其中之一。轮状病毒肠炎患儿血锌降低可能与饮食摄入减少、小肠吸收不良和胃肠道丢失增多等因素有关。而腹泻又进一步加重缺锌,形成恶性循环,使病程迁延。锌的补充能促进肠黏膜的修复、加速肠黏膜的再生,能减少肠道对水、电解质的分泌,可促进肠黏膜对水钠的重吸收,缓解腹泻症状。其主要作用机制:(1)锌离子可减少NO的生成,从而减少其对细胞的损伤,保护肠黏膜;(2)通过降低胃肠激素分泌,

降低小肠上皮细胞环磷酸鸟苷浓度,促进钠离子与氯离子的吸收;(3)可能与肠渗透压、肠黏膜酶功能、加强局部肠道免疫、抑制细菌繁殖和早期清除肠道细菌有关,从而在腹泻中发挥作用。至于适于补锌的年龄及补锌的量,尚存在争议。Wuchler等^[15]研究发现血锌浓度的变化与锌剂剂量呈正比,每天补锌5-8 mg,可降低腹泻发病率约20%,但不适用于<6 mo小儿的补锌。有学者研究发现<6 mo婴儿补锌达不到降低腹泻发病率及缩短腹泻持续时间的效果,反而会使患儿发病率增加。Lazzerini等^[16]的Meta分析也表明对于6 mo及以上的急性腹泻患儿,补锌可缩短病程,但对<6 mo的婴儿则无效。均与WHO的补锌建议有所出入,有待进一步研究。本研究对象均为>6 mo的婴幼儿,补元素锌的剂量20 mg/d。结果显示,补锌治疗组的疗效较对照组明显提高,并且住院时间也相应缩短。

随访3 mo发现,补锌后的患儿腹泻复发率较未补锌的患儿要低。一定程度上说明补锌不但能够减少腹泻的持续时间和降低疾病严重程度,还可以预防腹泻、降低腹泻的发病率。

总之,补锌疗法对于婴幼儿轮状病毒性肠炎疗效确切,可缩短住院时间,在一定时间内还可预防腹泻的发生和复发,还是值得临床推广应用的。

4 参考文献

- Medici MC, Abelli LA, Martinelli M, Corradi D, Dodi I, Tummo F, Albonetti V, Martella V, Dettori G, Chezzi C. Clinical and molecular observations of two fatal cases of rotavirus-associated enteritis in children in Italy. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 2733-2739 [PMID: 21525221 DOI: 10.1128/JCM.01358-10]
- 周玲, 潘家华. 轮状病毒血症480例临床症状观察. *中国实用儿科杂志* 2011; 26: 620
- 章迎儿, 杨素红. 葡萄糖酸锌联合喂养对小儿轮状病毒肠炎的疗效观察. *中华医院感染学杂志* 2013; 23: 860-861
- 中华医学会儿科学分会消化学组, 中华医学会儿科学分会肠内营养学分会. 婴儿急性腹泻的临床营养干预路径. *中华儿科杂志* 2012; 50: 682-683
- 沈晓明, 王卫平. 儿科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版

- 社, 2008: 262
- 6 中华医学会儿科学分会消化组, 中华医学会儿科学分会感染学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童腹泻病诊断治疗原则的专家共识. 中华儿科杂志 2009; 47: 634-636
- 7 方鹤松, 魏承毓, 段恕诚, 董宗祈, 董永绥, 胡皓夫, 赵祥文, 虞爱华, 陈绍璐, 徐莲芝. 中国腹泻病诊断治疗方案. 中国实用儿科杂志 1998; 13: 381-384
- 8 周瑞, 夏群, 沈怀云, 陈兰举, 刁艳霞, 刘婷婷. 轮状病毒感染婴幼儿预后的相关因素. 实用儿科临床杂志 2012; 27: 502-503
- 9 Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2008 estimate of world-wide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 136-141 [PMID: 22030330 DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70253-5]
- 10 Ramani S, Paul A, Saravanabavan A, Menon VK, Arumugam R, Sowmyanarayanan TV, Samuel P, Kang G. Rotavirus antigenemia in Indian children with rotavirus gastroenteritis and asymptomatic infections. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 1284-1289 [PMID: 21039217 DOI: 10.1086/657069]
- 11 Fuchigami T, Goto K, Hasegawa M, Saito K, Kida T, Hashimoto K, Fujita Y, Inamo Y, Kuzuya M. A 4-year-old girl with clinically mild encephalopathy with a reversible splenic lesion associated with rotavirus infection. *J Infect Chemother* 2013; 19: 149-153 [PMID: 22569794 DOI: 10.1007/s10156-012-0421-8]
- 12 盛晓阳, 沈晓明. 锌缺乏与儿童感染性疾病. 中华儿科杂志 2007; 45: 164-165
- 13 袁晶, 钱素云. 锌缺乏与感染性疾病相关研究进展. 实用儿科临床杂志 2012; 27: 789-791
- 14 王建红, 张悦, 金春华, 李娜, 王晓燕, 张丽丽. 葡萄糖酸锌治疗儿童锌缺乏症疗效观察. 北京医学 2012; 34: 409-410
- 15 Wuehler SE, Sempértegui F, Brown KH. Dose-response trial of prophylactic zinc supplements, with or without copper, in young Ecuadorian children at risk of zinc deficiency. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 723-733 [PMID: 18326612]
- 16 Lazzerini M, Ronfani L. Oral zinc for treating diarrhoea in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 6: CD005436 [PMID: 22696352]

■同行评价

本文选题好, 与临床密切相关, 有很重要的临床指导意义. 设计合理, 条理清晰, 结果可信, 参考文献新, 且有权威性.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤33例

张迎东, 许腾, 宋军, 徐为

■背景资料

原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤(primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma, PGINHL)临床上较为少见, 难以与其他消化系统肿瘤相鉴别, 容易导致误诊, 而且治疗方式存在争议, 本研究旨在探讨其诊断要点及外科治疗策略, 应用于临床工作。

张迎东, 许腾, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221000
宋军, 徐为, 徐州医学院附属医院胃肠外科 江苏省徐州市 221000

张迎东, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题研究由张迎东与徐为设计; 病例收集由张迎东、许腾及宋军完成; 数据分析由张迎东与许腾完成; 本论文写作由张迎东与徐为完成。

通讯作者: 徐为, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 221000, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院新大楼10病区胃肠外科. eryuanxuwei@126.com

收稿日期: 2013-09-09 修回日期: 2013-10-19

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: Analysis of 33 cases

Ying-Dong Zhang, Teng Xu, Jun Song, Wei Xu

Ying-Dong Zhang, Teng Xu, Graduate School, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Jun Song, Wei Xu, Department of Gastrointestinal Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wei Xu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China. eryuanxuwei@126.com

Received: 2013-09-09 Revised: 2013-10-19

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the diagnosis and surgical treatment of primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma (PGINHL).

METHODS: The clinical data for 33 patients with PGINHL were retrospectively reviewed.

RESULTS: The tumor was mainly located in the stomach ($n = 16$), small intestine ($n = 9$), appendix ($n = 1$) or the colon ($n = 7$). All cases were pathologically confirmed to have non-Hodgkin's lymphoma. All the patients were treated surgically, containing radical excision in 26 cases, palliative resection in 4 cases, and intestinal short circuit anastomosis and biopsy in 3 cases. There were 2 deaths during the perioperative period. Twenty-two patients were followed and the 1-year survival rate was 85%.

CONCLUSION: The lack of specific clinical manifestations in PGINHL easily leads to misdiagnosis. When the diagnosis is not clear or the patient have surgical indications, surgery should be performed as soon as possible.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma; Diagnosis; Surgical treatment

Zhang YD, Xu T, Song J, Xu W. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: Analysis of 33 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4034-4036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4034.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4034>

摘要

目的: 探讨原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤(primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma, PGINHL)的诊断和外科治疗策略。

方法: 回顾分析我院经过外科治疗的33例PGINHL的临床资料。

结果: 33例患者中肿瘤位于胃者16例, 小肠9例, 阑尾1例, 结肠7例。根治性切除切除26例, 减瘤手术4例, 行短路、活检等手术3例。病理类型均为非霍奇金淋巴瘤。围手术期死亡2例, 26例获得随访, 术后随访1年总体生存率为85%。

结论: PGINHL的临床表现缺乏特异性, 容易导致误诊, 对于不能明确诊断及具备手术指征的患者应尽早手术治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤; 诊断; 外科治疗

核心提示: PGINHL临床上诊断较为困难, 容易延误治疗, 而临床分期是影响患者预后的重要因素, 所以应争取早期诊断和早期治疗, 无论采取何种

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

治疗方式, 手术对于患者的明确诊断和治疗有很重要的价值。

张迎东, 许腾, 宋军, 徐为. 原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤33例. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4034-4036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4034.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4034>

0 引言

淋巴瘤结外病变最常见于胃肠道, 原发性胃肠道淋巴瘤约占所有结外淋巴瘤的30%-40%, 占所有胃肠道恶性肿瘤的1%-8%^[1], 病理类型主要为非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL). 原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤(primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma, PGINHL)发病率低, 起病隐匿, 临床表现不典型, 误诊率较高^[2], 并且由于缺乏有效的前瞻性试验研究、分期和分类的统一性, 难以对PGINHL的治疗给出统一的推荐方案, 目前临床上仍采用外科治疗为主的综合治疗. 现收集2008-2012年本院行外科治疗并经病理确诊的33例PGINHL, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组33例病例中, 男22例, 女11例, 年龄29-81岁, 平均年龄63.3岁. 发病至就诊时间为7 d-24 mo, 平均就诊时间为3.8 mo. 临床表现为: 腹部不适及腹痛20例(61%), 腹部包块5例(15%), 黑便3例(9%), 进行性体质量下降2例(6%), 急腹症3例(9%).

1.2 方法

1.2.1 诊断和分期标准: 本组33例均经病理确诊, 均为NHL, 都符合Dawson诊断标准: (1)无病理性浅表淋巴结肿大; (2)胸片无纵隔淋巴结肿大; (3)末梢血中无幼稚细胞或异常细胞; (4)肿瘤位于小肠或经淋巴瘤侵犯附近的淋巴结; (5)肝、脾未受侵犯. 用于淋巴瘤的临床分期方法主要是Ann Arbor分期, 将PGINHL分为4期: I期: 肿瘤尚局限, 未侵犯淋巴结; II期: 肿瘤虽局限, 但有淋巴结侵犯; III期: 邻近器官受累; IV期: 已有远处转移.

1.2.2 诊断: 本组中16例胃NHL术前均行胃镜检查, 5例明确诊断, 11例考虑为胃恶性肿瘤, 但未定性. 9例小肠NHL中1例位于十二指肠行胃镜检查发现, 5例行彩超、消化系统造影和CT检查发现小肠管壁增厚或凸向肠腔的肿瘤, 1例行胶

囊内镜检查发现, 术前均诊断为小肠肿瘤, 无法定性, 另外有1例肠梗阻和1例肠穿孔, 行剖腹探查术, 术后病理证实小肠NHL. 1例阑尾NHL术前误诊为慢性阑尾炎. 7例结肠NHL术前行结肠镜和CT检查仅1例明确诊断为NHL, 5例考虑为结肠癌, 1例肠梗阻行剖腹探查, 术后病理证实结肠NHL.

2 结果

2.1 组织学类型和分期 经病理学检查证实, 本组33例均为NHL, 其中弥漫大B细胞性NHL 22例(64%), 结外边缘区B细胞性NHL 7例(21%), 套细胞性NHL 2例(6%), 肠病相关T细胞性NHL 2例(6%), MALT淋巴瘤1例(3%). 临床分期: I期8例, II期12例, III期10例, IV期3例.

2.2 肿瘤部位 本组33例中肿瘤位于胃者16例, 其中胃窦部8例, 胃底及胃体6例, 多部位者2例; 小肠9例中十二指肠1例, 空肠1例, 回肠7例; 位于阑尾1例. 结肠7例中回盲部3例, 升结肠4例.

2.3 手术方法 本组33例均行手术治疗, 其中行根治手术26例, 行减瘤手术4例, 行短路、活检等手术3例.

2.4 结果和随访 围手术期死亡2例, 1例死于术后肺栓塞, 1例因肿瘤侵广泛犯周围脏器, 死于术后多脏器功能衰竭, 均为胃NHL. 术后共26例患者获得随访1年以上, 随访率84%, 其中21例手术后行单纯化疗, 3例行化疗联合局部放疗, 化疗方案用COP方案(环磷酰胺、长春新碱、泼尼松)或CHOP方案(环磷酰胺、多柔比星、长春新碱、泼尼松), 2例出院后未继续治疗. 1年总体生存率为85%(22/26).

3 讨论

PGINHL的临床表现各异, 缺乏特异性, 易与其他消化系肿瘤相混淆^[3]. 胃部主要以上腹部不适、腹痛、腹胀、贫血为主; 小肠主要以腹痛、腹胀、肠梗阻、穿孔、消瘦为主; 结肠以腹痛、腹部包块、黑便、大便次数增多为主, 均无显著特异性. PGINHL的诊断主要依靠内镜活检、超声、CT、消化系造影等, 但这些检查都有各自的局限性, 会造成漏诊和误诊. 在内镜下直接观察下很难明确病变组织到底是消化系癌还是淋巴瘤, 并且由于胃肠道淋巴瘤病变原发于黏膜下层, 常规活检组织既少又浅, 再加上挤压变性等影响, 导致内镜活检阳性率较低^[4]. 消化系统造影检查可以明确肿瘤的位置, 但不

■ 研发前沿

国内外目前没有明确的指南用于指导PGINHL诊断和治疗, 需要进一步的研究以指导本疾病临床治疗.

■同行评价
本文具有一定指
导意义。

能活检定性。超声和CT检查均可显示可发现肿瘤病灶及腹腔淋巴结的情况,也不能鉴别肿瘤性质^[5]。有研究表明,超声胃镜检查对于鉴别胃淋巴瘤和胃癌有一定价值,因为在超声内镜下浸润性胃癌图像显示垂直性生长的倾向,而胃淋巴瘤图像则显示向水平方向生长^[6]。PET/CT对胃肠道淋巴瘤的诊断也有较高价值,但其检查价格高昂,限制了其在临床上常规应用^[7]。

PGINHL治疗手段主要有手术、化疗、放疗、免疫治疗、基因治疗及抗感染治疗等^[8-10]。目前临床上仍以根治性切除为主,然后再进行放化疗和其他治疗,有文献对大宗经手术治疗的胃肠道淋巴瘤患者进行回顾性分析,显示外科治疗并不能改善患者的总体预后^[11]。虽然手术治疗的作用对PGINHL的作用仍然具有争议,但对于不能明确诊断及有手术指征的患者应果断行剖腹探查术,以免延误治疗的最佳时机。因为早期诊断及治疗对改善患者预后十分重要, Nakamura等^[12]对原发性胃肠道淋巴瘤455例的临床病理资料进行分析显示,临床分期早是原发性胃肠道淋巴瘤的长期存活率的独立预后因素。我们认为有几种情况应该考虑行手术治疗,首先病理组织学类型及临床分期是确定PGINHL治疗方案的两个最重要因素^[1,8],虽然内镜活检可以诊断PGINHL,但有时较小的组织很难得到准确的病理组织学类型,而开腹手术可以使医生获得较大的肿瘤组织样本进行病理分析,可以为PGINHL后续治疗提供可靠依据;其次大部分小肠NHL仍然需要依靠外科手术获取足够组织标本才能明确诊断^[13];还有当PGINHL引起穿孔、肠梗阻、肠套叠时,手术治疗是最佳治疗方案。如果PGINHL可以通过手术根治,手术还是应该作为首选,其他微小转移病灶通过放化疗可以得到有效治疗^[14];最后即使是姑息性手术也可以有效地切除肿瘤,减轻放化疗负荷,提高疗效,并且如果肿瘤组织过大,放化疗容易引起肠出血、穿孔或梗阻等并发症,减瘤手术可以有效减少这些并发症的发生。

总之,虽然PGINHL的术前临床诊断较困难,但是应尽量争取早期诊断和早期治疗,对于不能明确诊断及具备手术指征的PGINHL患者应尽早手术治疗。

4 参考文献

- 1 Nakamura S, Matsumoto T. Gastrointestinal lymphoma: recent advances in diagnosis and treatment. *Digestion* 2013; 87: 182-188 [PMID: 23635497 DOI: 10.1159/000350051]
- 2 梁堂帅, 马艳会, 张路遥, 马东明, 王权, 所剑. 原发性胃肠道淋巴瘤诊断方式的探讨. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 913-914
- 3 涂蕾, 林军, 杨桂芳, 谭诗云, 郑国荣, 黄晓东, 高晓阳, 童强, 曹佳懿, 郑丽端, 侯晓华. 不同部位原发性胃肠道淋巴瘤的临床特点. *中华消化外科杂志* 2008; 28: 472-475
- 4 杨建锋, 张筱风, 张啸. 原发性胃肠道淋巴瘤诊治. *医学研究杂志* 2006; 35: 42-44.
- 5 陈勇, 郝凯, 尚莱杰, 杨文魁, 张伟, 薛鹏. 胃肠道淋巴瘤的CT影像表现. *医学影像学杂志* 2012; 22: 578-580
- 6 彭燕, 许国铭, 邹小平, 金震东. 超声内镜在胃淋巴瘤诊断中的应用. *中国内镜杂志* 2002; 8: 28-30
- 7 Makis W, Ciarallo A, Abikhzer G, Stern J, Laufer J. Desmoid tumour (aggressive fibromatosis) of the colon mimics malignancy on dual time-point 18F-FDG PET/CT imaging. *Br J Radiol* 2012; 85: e37-e40 [PMID: 22308225 DOI: 10.1259/bjr/43870228]
- 8 万伟, 克晓燕. 原发胃肠道非霍奇金淋巴瘤治疗进展. *白血病·淋巴瘤* 2011; 20: 766-768
- 9 宋丽萍, 侯惠莲, 赵辉, 郑伟, 张龙, 高娟. 原发性胃肠道非霍奇金淋巴瘤的临床特征及疗效分析. *癌症* 2004; 23: 685-688
- 10 宋丽萍, 张学斌, 邓怀慈. 原发性胃肠道淋巴瘤的诊断治疗进展. *国外医学(肿瘤学分册)* 2004; 3: 214-216
- 11 Cheung MC, Housri N, Ogilvie MP, Sola JE, Koniaris LG. Surgery does not adversely affect survival in primary gastrointestinal lymphoma. *J Surg Oncol* 2009; 100: 59-64 [PMID: 19399785 DOI: 10.1002/jso.21298]
- 12 Nakamura S, Matsumoto T, Iida M, Yao T, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal lymphoma in Japan: a clinicopathologic analysis of 455 patients with special reference to its time trends. *Cancer* 2003; 97: 2462-2473 [PMID: 12733145]
- 13 章馨允, 王华庆, 钱正子, 张会来, 周世勇, 邱立华, 赵静, 王平. 原发性小肠淋巴瘤45例回顾性分析. *中华外科杂志* 2013; 5: 92-93
- 14 Radman I, Kovacević-Metelko J, Aurer I, Nemet D, Zupancić-Salek S, Bogdanić V, Sertić D, Mrsić M, Pulanić R, Gasparović V, Labar B. Surgical resection in the treatment of primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: retrospective study. *Croat Med J* 2002; 43: 555-560 [PMID: 12402395]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ETV1转录因子在胃肠间质瘤中的作用

李强, 徐龙, 刘先发

李强, 刘先发, 赣南医学院第一附属医院急诊科 江西省赣州市 341000
徐龙, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071
李强, 主要从事胃肠动力学的研究.
江西省科技厅科技计划基金资助项目, No. 20081028
江西省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. GTT09114
作者贡献分布: 本课题由徐龙设计; 研究过程由李强与刘先发操作完成; 数据分析和本文写作由李强完成.
通讯作者: 徐龙, 副教授, 430071, 湖北省武汉市武昌区东湖路169号, 武汉大学中南医院消化内科. dlxulong@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-25
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Role of ETV1 transcription factor in gastrointestinal stromal tumor cells

Qiang Li, Long Xu, Xian-Fa Liu

Qiang Li, Xian-Fa Liu, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou Municipality, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China
Long Xu, Department of Gastroenterology, Wuhan University Zhongnan Hospital, Wuhan 330006, Hubei Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Project of Jiangxi Health Department, No. 20081028; the Scientific and Technological Research Project of Jiangxi Education Department, No. GTT09114

Correspondence to: Long Xu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Wuhan University Zhongnan Hospital, 169 Donghu Road, Wuchang District, Wuhan 330006, Hubei Province, China. dlxulong@yahoo.com.cn
Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-25
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the role of ETV1 in the proliferation and apoptosis of gastrointestinal stromal tumor (GIST) cells.

METHODS: A recombinant lentiviral vector carrying the small interfering RNA targeting ETV1 was constructed and used to infect GIST-T1 cell. GIST cells were divided into three groups: a blank control group, a negative control group (PLVX-shRNA group), and an experimental group (PLVX-shRNA-ETV1 group). After infection, ETV1 expression was detected by Western blot. GIST cell proliferation and apoptosis were detected by MTT assay and flow cytometry, respectively.

RESULTS: In the early stages after lentiviral infection, cell proliferation in the experimental group showed no significant differences compared to the blank control group ($P = 0.539, 0.188$) and negative control group ($P = 0.877, 0.992$). However, in the late stages, cell proliferation in the experimental group showed significant decreases compared to the blank control group ($P = 0.014, 0.000, 0.020$) and negative control group ($P = 0.011, 0.000, 0.003$). The rate of apoptosis in the experimental group was significantly higher compared to the blank control group ($P = 0.000$) and negative control group ($P = 0.000$).

CONCLUSION: ETV1 transcription factor may play an important role in the proliferation and apoptosis of GIST cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal stromal tumors; ETS variant gene 1

Li Q, Xu L, Liu XF. Role of ETV1 transcription factor in gastrointestinal stromal tumor cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4037-4042 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4037>

摘要

目的: 在前期实验中, 我们通过体外构建干扰人源性ETS变异基因1(human ETS variant gene 1, *hETV1*)基因shRNA的载体, 干扰ETV1表达, 进而影响胃肠间质瘤细胞的侵袭作用, 在此, 我们继续通过上述方法, 观察胃肠间质瘤细胞增殖与凋亡的影响。

方法: 体外构建干扰*hETV1*基因shRNA的慢病毒载体, 感染GIST-T1细胞。实验分成3组: 空白组、阴性对照组[PLVX(逆转录病毒)-shRNA组]、实验组(PLVX-shRNA-ETV1组), 用Western blot方法对合成的靶点进行筛选, 采用体外增殖培养试验(MTT法)和流式细胞凋亡检测感染前后细胞增殖与凋亡的情况。

结果: 在MTT实验的前期阶段, 实验组细胞增

■背景资料

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是一类起源胃肠道间叶组织的肿瘤, 主要发生于消化道, 是胃肠道最常见的间叶组织肿瘤, 多见于胃和小肠。主要由kit或pdgfra(kit或pdgfra是酪氨酸激酶受体)基因突变, 导致酪氨酸激酶持续的活化引起细胞增殖分化失控导致GIST。

■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

■ 研发前沿

因临床上对于胃肠间质瘤的靶向药物,其作用靶点是*kit*基因的下游信号分子酪氨酸激酶,因*kit*基因存在二次突变现象,从而导致临床上耐药的发生,继而寻找新的干预靶点。现世界范围一些相关蛋白及信号通路研究较多,对于转录因子研究相对较少,很可能成为今后的热点和难点,本文对其做简单试探性的研究,需要广大医务工作者进行更深入的研究,为以后的临床治疗及药物的研发提供新的思路。

殖数量未见明显下降,与空白组($P = 0.539$ 、 $P = 0.188$)及阴性对照组($P = 0.877$ 、 $P = 0.992$),无显著性差异,而在后期阶段,实验组细胞增殖数量明显受到抑制,与空白组($P = 0.014$ 、 $P = 0.000$ 、 $P = 0.020$)及阴性对照组($P = 0.011$ 、 $P = 0.000$ 、 $P = 0.003$),有显著性差异;同时在细胞凋亡试验中,实验组其凋亡率比空白组($P = 0.000$)及阴性对照组($P = 0.000$)明显增高,有显著性差异。

结论:通过体外干扰ETV1转录因子,导致GIST-T1细胞在实验后期阶段有明显抑制作用,细胞凋亡明显增加,从而影响胃肠间质瘤细胞的进展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠间质瘤; ETS变异基因1

核心提示: ETS变异基因1(ETS variant gene 1, ETV1)转录因子的表达,在一定程度上可以促进胃肠间质瘤细胞的增殖,同时抑制了胃肠间质瘤细胞的凋亡进程。通过对ETV1转录因子研究证明,ETV1转录因子可能成为新的胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumors)治疗靶点。

李强, 徐龙, 刘先发. ETV1转录因子在胃肠间质瘤中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4037-4042 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4037>

0 引言

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是胃肠道最常见的间叶组织肿瘤,其形成机制主要由*kit*又名SCFR/CD117, stem cell factor receptor或*pdgfra*(platelet-derived growth factor receptor alpha, 血小板源性生长因子受体 α 多肽)基因突变(*kit*或*pdgfra*是酪氨酸激酶受体),从而导致酪氨酸激酶的过度活化,引起细胞增生和凋亡失衡,导致其肿瘤的形成及恶变行为^[1]。目前,甲磺酸伊马替尼等一些靶向治疗药可以有效阻止*kit*受体的持续活化,抑制GIST的生长,对GIST的转移和复发均有显著疗效,因长期服用甲磺酸伊马替尼等一些靶向治疗药,有部分病人出现耐药现象,进一步研究证实,由于*kit*基因的二次突变或多次突变,从而导致临床上耐药的发生^[2,3]。前期实验我们发现,ETS变异基因1(ETS variant gene 1, ETV1)是转录因子高表达于GIST,抑制GIST的侵袭作用,在此,我们继续前期实验^[4],干扰ETV1基因表达,观察其对GIST

的增殖与凋亡的影响,进一步证实ETV1基因可能成为GIST治疗的新靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃肠间质瘤细胞株GIST-T1由上海拜力生物科技有限公司提供。高糖的DMEM培养基、胎牛血清(美国Hyclone公司)。慢病毒的构建由深圳市百恩维生物科技公司提供。检测的试剂MTT(美国Solarbio公司), ANNEXIN V-FITC凋亡试剂盒(美国Solarbio公司), CO₂培养箱(Sanyo公司), 超净工作台(苏州半导体设备厂), Olympus倒置显微镜及成像系统IX71(日本Olympus公司), M5/M5e多功能酶标仪[美国Molecular Devices(MD)公司], 流式细胞仪Flow Cytometer-FACSAria II(美国BD公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: GIST-T1用含10%胎牛血清的高糖DMEM培养基,置于37℃恒温、5%CO₂的饱和湿度培养箱中进行培养。

1.2.2 观察细胞增殖实验: 调整细胞数大约为 5×10^4 个/mL接种于96孔板中,每孔中加入200 μ L的细胞悬液,以只加不含细胞培养液作为调零孔,每组设6个复孔,接种96孔板后分别与1、4、7、10、14 d检测。检测时每孔加入5 mg/mL MTT 20 μ L,继续置于37℃恒温、5%CO₂的培养箱孵育4 h,吸弃培养液,每孔加入150 μ L DMSO,振荡10 min,用酶标仪测定490 nm波长吸光度值(A_{490}),实验重复3次。采用Compare Means/One-way ANOVA检验,分析空白组、阴性对照组和实验组之间的差异。

1.2.3 细胞凋亡实验: 采用流式细胞仪Annexin V-FITC[Annexin A5-green fluorescein/propidium iodide, 膜联蛋白A5-绿色荧光素/碘化丙啶(propidium iodide, PI)]/PI双染色法,贴壁生长的细胞用含有0.02%EDTA的0.25%胰蛋白酶消化成单细胞悬液,调整待测细胞的浓度为 5×10^5 - 1×10^6 个/mL。取1 mL细胞,1000 r/min, 4℃离心10 min,弃上清。加入1 mL预冷的PBS,轻轻震荡使细胞悬浮,1000 r/min, 4℃离心10 min,弃上清。重复步骤3次。将细胞重悬于200 μ L Binding Buffer。加入10 μ L Annexin V-FITC和10 μ L PI,轻轻混匀,避光室温反应15 min或者4℃反应30 min。加入300 μ L Binding Buffer,在1 h内上机检测。观察:Annexin V-FITC结合到凋亡细胞后,在蓝色光的激发下,发出绿色荧光,可区分凋亡细胞与正常细胞,碘化丙啶是一种核酸染料,他不能穿透完

表 1 干扰hETV1转录因子转染GIST-T1细胞前后4值的变化 ($n = 18$)

分组	第1天	第4天	第7天	第10天	第13天
空白组	0.1683 ± 0.0237	0.4390 ± 0.0638	0.9470 ± 0.0761	1.1383 ± 0.1095	1.1353 ± 0.1045
阴性对照组	0.1633 ± 0.0180	0.4715 ± 0.0339	0.9218 ± 0.0499	1.1228 ± 0.0573	1.1357 ± 0.1193
实验组	0.1605 ± 0.0153	0.4733 ± 0.0355	0.8108 ± 0.1214	0.9123 ± 0.1342	0.9877 ± 0.1065
<i>F</i> 值	0.586	1.716	7.034	17.201	8.103
<i>P</i> 值	0.562	0.195	0.003	0.000	0.001

* $P < 0.05$ vs 阴性对照组. hETV1: 人源性ETS变异基因1; GIST: 胃肠间质瘤.

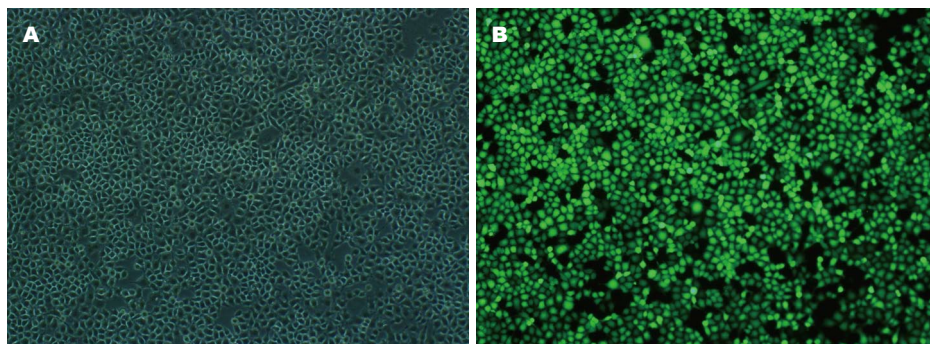


图 1 慢病毒转染GIST-T1细胞72 h的荧光表达情况($\times 200$). A: 经慢病毒转染GIST-T1细胞72 h倒置显微镜下结果; B: 经慢病毒转染GIST-T1细胞72 h荧光倒置显微镜下结果. GIST: 胃肠间质瘤.

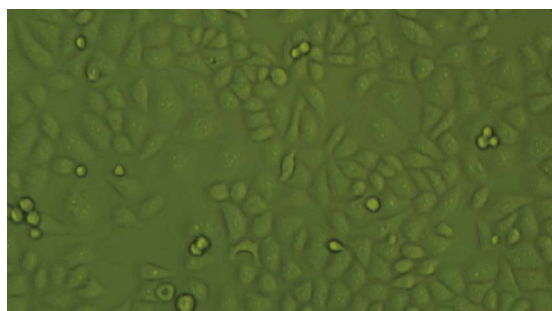


图 2 GIST-T1培养72 h的细胞形态($\times 200$). GIST: 胃肠间质瘤.

整细胞膜,但对凋亡晚期细胞和死细胞的破损细胞膜能够穿透,并使细胞核染成红色,Annexin V-FITC与PI匹配使用,可以将凋亡早期的细胞和晚期的细胞区分开来.结果判断:左上象限显示坏死细胞(FITC/ PI^+);右上象限显示晚期凋亡细胞(FITC/ PI^+);左下象限显示正常细胞(FITC/ PI^-);而右下象限显示早期凋亡细胞(FITC/ PI^+).采用Compare Means/One-Way ANOVA检验,分析空白组、阴性对照组及实验组之间的差异.

统计学处理 采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,样本均数比较采用方差分析,用SPSS13.0统计软件进行方差分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 shRNA-hETV1慢病毒转染GIST-T1细胞 如图1所示,经慢病毒转染的GIST-T1细胞,转染率达90%以上,表明已合成的干扰序列90%以上转入到GIST-T1(胃肠间质瘤细胞)细胞核中.

2.2 体外干扰hETV1转录因子对GIST-T1细胞生长和凋亡的影响

2.2.1 观察干扰前后细胞的生长曲线变化: GIST-T1细胞呈梭形细胞、非普通型上皮样细胞(表1).通过转染GIST-T1细胞后分别于第1、4、7、10、13天通过MTT法测其吸光度(*A*值),通过测得的数值并描述其生长曲线.

表1中,空白组、阴性对照组和实验组随着时间的延长,其测定的吸光度也逐渐增加.在第1-7天之间,阴性对照组与试验组相比较,无明显差异性($P > 0.05$),无统计学意义;实验组与空白组及实验组与阴性对照组相比较,均无显著性差异($P > 0.05$),无统计学意义.然而在第7天开始以后,阴性对照组与试验组相比较,无明显差异性($P > 0.05$),无统计学意义;实验组与空白组($P = 0.000$ 和 $P = 0.001$)及实验组与阴性对照组($P = 0.000$ 和 $P = 0.001$)相比较均有显著性差异

■ 相关报道

EST家族参与调节细胞的增生分化,与肿瘤的侵袭和转移关系十分密切,据最新Ping等研究发现,通过对转录因子hETV1和对kit研究证明其共同影响GIST的分化与进展,如果干扰hETV1,从而影响GIST的kit基因表达,将有可能降低突变后KIT蛋白的合成,这种作用不会受kit基因外显子突变种类的影响,有望彻底纠正减少酪氨酸激酶的过度活化.类似对于EST家族的一些成员,与肿瘤关系密切,其相关报道也有一些相关文献.

■ 创新盘点

针对ETS家族的研究报道很多,而对于ETV1(转录因子)对于胃肠间质瘤方面的相关报道比较少,同时因*kii*基因存在二次突变现象,从而针对临床上抑制*kii*基因的下游信号分子酪氨酸激酶的靶向药物耐药的发生,继而寻找新的干预靶点, Ping Chi等通过对转录因子hETV1和对KIT研究证明其共同影响GIST的分化与进展,但对于其胃肠间质瘤的增值、分化及如何影响其肿瘤的转移能力未进行进一步研究,所以在此本文针对hETV1影响胃肠间质瘤的增值、分化及凋亡进行研究,但对其影响其侵袭能力,在前面已经做了研究。

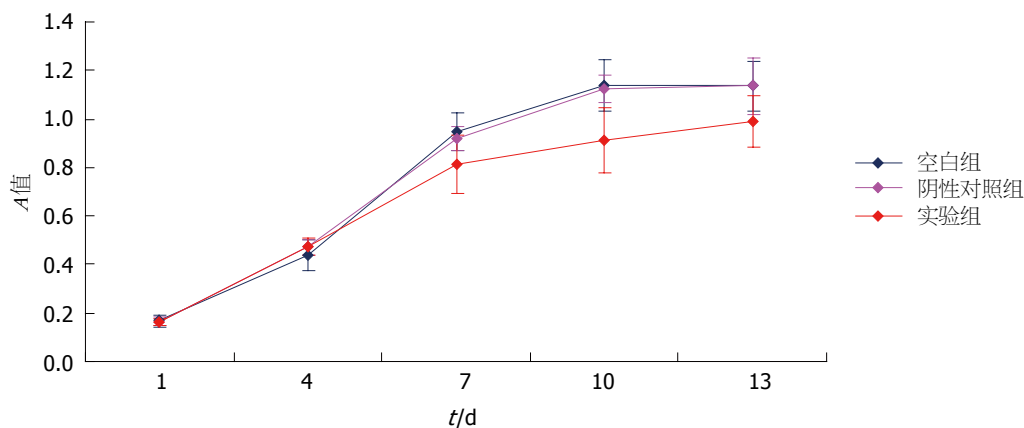


图3 经慢病毒转染GIST-T1(胃肠间质瘤细胞)前后的细胞生长曲线。

表2 干扰hETV1转录因子转染GIST-T1细胞的存活率比较 ($n=3$, %)

分组	第1天	第4天	第7天	第10天	第13天
阴性对照组	97.03	107.40	97.34	99.03	100.04
实验组	95.37	107.81	85.62	80.15	87.00

($P<0.05$), 有统计学意义。

如表2示, 阴性对照组分别与第1-13天, 细胞无明显死亡; 实验组于第1-7天, 细胞无明显死亡, 然而, 在第7天之后, 大约有25%的细胞出现了死亡。

通过表1结果, 采用第1、4、7、10、13天所测的吸光度平均值, 绘制出GIST-T1细胞生长曲线(图2, 3)。图3示, 实验组、空白组和阴性对照组在第1-6天时, 其描述的生长曲线基本重叠, 然而在第6天开始以后实验组的生长曲线与空白组、阴性对照组相比, 有所下降, 其下降幅度不十分明显。

2.2.2 观察干扰前后细胞凋亡情况: 通过慢病毒转染GIST-T1细胞72 h后, 阴性对照组与空白组相比较, 出现了早期凋亡及晚期凋亡现象; 实验组与空白组相比, 其早期凋亡及晚期凋亡显著增多, 实验组与阴性对照组相比, 早期凋亡及晚期凋亡也明显增多(图4)。

通过慢病毒转染GIST-T1细胞72 h后, 空白组、阴性对照组及实验组其早期凋亡率及晚期凋亡率组内相比较, 阴性对照组与空白组相比较, 出现早期凋亡率及晚期凋亡率均有差异($P<0.05$), 有统计学意义。试验组与空白组、实验组与阴性对照组相比较, 出现的早期凋亡率及晚期凋亡率均有显著性差异($P<0.05$), 有统计

表3 慢病毒转染GIST-T1(胃肠间质瘤细胞)72 h后各组细胞凋亡率的比较 (mean \pm SD, %)

分组(区域)	%	P值
空白组		
坏死细胞	2.8563 \pm 0.0853	
晚期凋亡细胞	3.8540 \pm 0.1347	
早期凋亡细胞	0.9090 \pm 0.0146	
正常细胞	92.3806 \pm 0.2215	
阴性对照组		
坏死细胞	3.1353 \pm 0.1082	
晚期凋亡细胞	9.3180 \pm 0.1298	0.000
早期凋亡细胞	32.8277 \pm 1.5802	0.000
正常细胞	54.7190 \pm 1.5691	
实验组		
坏死细胞	6.4520 \pm 0.1820	
晚期凋亡细胞	10.9580 \pm 0.4358	0.000
早期凋亡细胞	61.9930 \pm 1.3725 ^a	0.000
正常细胞	20.5970 \pm 1.9096	

^a $P<0.05$ vs 阴性对照组。

学意义, 其主要表现为一个早期凋亡过程(表3)。

3 讨论

GIST是一类起源于胃肠道间叶组织的肿瘤, 他们好发于胃、小肠和结肠, 其他消化系较为少见^[5,6], 没有典型的临床表现^[7], 现认为, GIST主要起源于胃肠道肌间神经丛周围的Cajal间质细胞^[8,9]。在胃肠间质瘤中, 由于*c-kit*原癌基因的突变, 导致其下游的酪氨酸激酶在没有配体的情况下, 持续活化, 导致其GIST细胞增殖分化失控, 从而引发肿瘤形成。因此, 抑制酪氨酸激酶的持续活化成为控制GIST研究的靶标^[8]。甲磺酸伊马替尼等一些抗肿瘤靶向药可以有效地阻止酪氨酸激酶的

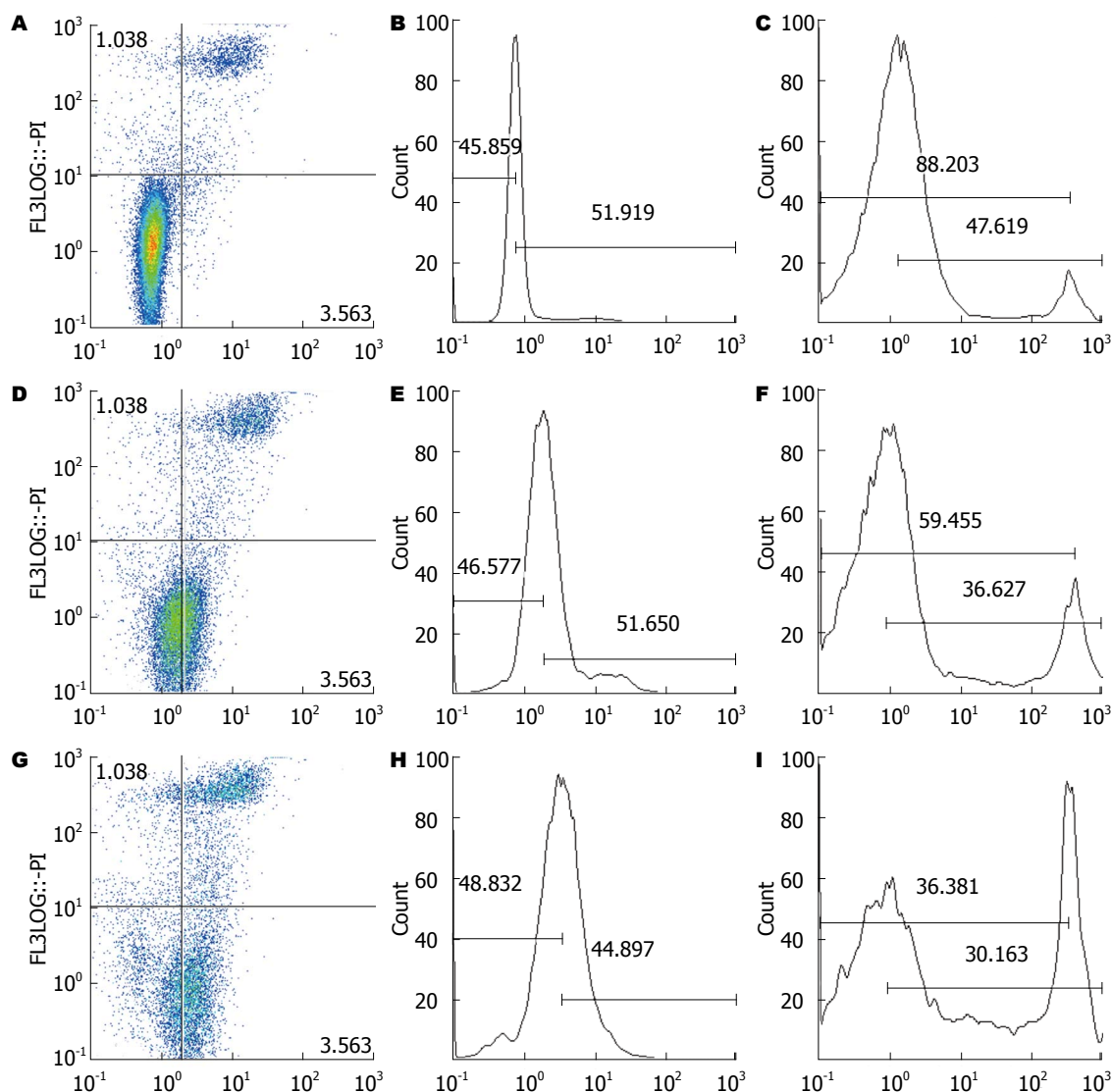


图 4 慢病毒转染GIST-T1细胞72 h后各组细胞凋亡流式图. A-C: 空白组; D-F: 阴性对照组; G-I: 实验组.

应用要点

临床针对突变 kit 或 $pdgfra$ 基因为干扰靶点研发的药物, 比如伊马替尼等抗肿瘤药物, 由于突变的 kit 或 $pdgfra$ 基因存在多位点和二次突变的现象, 从而导致抗肿瘤药物的耐药, 本研究体外构建干扰 $ETV1$ 基因shRNA的载体, 干扰 $ETV1$ 表达, 观察其对GIST的增殖、分化的影响, 以寻找新的GIST治疗靶点, 为临床胃肠间质瘤的治疗提供新的思路.

持续激活, 抑制肿瘤的生长, 对GIST患者均有一定的疗效^[10,11]. 因长期服用此类药物, 导致临床上部分出现耐药现象, 研究发现, 在出现对耐药患者的基因分析发现, 耐药病人的基因的 kit 基因出现新的突变或者存在二次或多次突变现象发生, 从而解释了临床上耐药现象的发生. 为了进一步解决对于临床耐药患者的治疗, 我们必须进一步寻找新的靶点, 进行靶向干预治疗.

在人类中, ETS域的转录因子家族包括27种蛋白质, ETV1因子是其中之一, 我们前期实验发现, ETV1转录因子与GIST的侵袭和转移存在密切关系, 他可以促进GIST的侵袭和转移^[12-14]. 同时Chi等^[15]研究发现, ETV1普遍高表达在胃肠道间质瘤和伊马替尼的敏感和耐药的GIST细胞株中, 促进其的生长和增殖.

我们继续通过采用基因干扰技术, 沉默掉

GIST-T1细胞株的hETV1转录因子, 对其进行生长和凋亡研究, 在其结果示, 干扰hETV1基因的实验组和空白组及阴性对照组相比较, 在前期阶段GIST-T1细胞生长没有出现一个明显的抑制状态, 而到后期阶段, 可以看见经沉默掉hETV1基因的实验组较空白组及阴性对照组有一个明显的生长抑制, 可能GIST-T1细胞株的生长在早期阶段, hETV1转录因子只是部分参与肿瘤的生长, 可能存在另外的基因共同参与GIST-T1细胞的生长和分化, hETV1对于早期胃肠间质瘤的生长只是起一个次要地位. 但是在后期阶段, hETV1转录因子对GIST-T1细胞存在明显的抑制, 证实说明, 此阶段hETV1起主要作用; 另外我们对GIST-T1细胞凋亡加以研究也发现, 经沉默hETV1基因的实验组较空白组及阴性对照组有一个明显的凋亡现象, 说明hETV1转录

■同行评价

本文设计合理, 具有一定的学术价值, 具有一定指导意义。

因子在调控胃肠间质瘤的凋亡起着主要的作用。经大量文献证实, *c-kit*基因的高表达与突变导致酪氨酸激酶持续的活化, 导致胃肠间质瘤增生与凋亡失衡, 从而导致肿瘤过度增殖, 减缓凋亡的发生。我们在前期试验中在此对发现, 经过沉默掉*hETV1*基因的GIST-T1细胞行免疫化学, 经沉默掉*hETV1*基因的实验组较空白组及阴性对照组相比, 其染色度明显变浅, 说明沉默*hETV1*基因的GIST-T1细胞体外C-KIT蛋白表达明显降低, 从而让我们联想到, *hETV1*转录因子与*c-kit*基因存在着某种密切的联系, 很大可能程度上通过抑制*hETV1*转录因子, 抑制*c-kit*在胃肠间质瘤中的过表达, 稳定其基因, 减少突变的发生率, 从而抑制胃肠间质瘤生长, 加速其凋亡的进程。

4 参考文献

- 1 Al-Batran SE, Hartmann JT, Heidel F, Stoecklacher J, Wardelmann E, Dechow C, Dux M, Izbicki JR, Kraus T, Fischer T, Jäger E. Focal progression in patients with gastrointestinal stromal tumors after initial response to imatinib mesylate: a three-center-based study of 38 patients. *Gastric Cancer* 2007; 10: 145-152 [PMID: 17922091 DOI: 10.1007/s10120-007-0425-8]
- 2 Nishida T, Kanda T, Nishitani A, Takahashi T, Nakajima K, Ishikawa T, Hirota S. Secondary mutations in the kinase domain of the KIT gene are predominant in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Sci* 2008; 99: 799-804 [PMID: 18294292 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00727.x]
- 3 Zhu MJ, Ou WB, Fletcher CD, Cohen PS, Demetri GD, Fletcher JA. KIT oncoprotein interactions in gastrointestinal stromal tumors: therapeutic relevance. *Oncogene* 2007; 26: 6386-6395 [PMID: 17452978 DOI: 10.1038/sj.onc.1210464]
- 4 李强, 徐龙. ETV1在胃肠间质瘤中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2888-2894
- 5 Miettinen M, Monihan JM, Sarlomo-Rikala M, Kovatich AJ, Carr NJ, Emory TS, Sobin LH. Gastrointestinal stromal tumors/smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omentum and mesentery: clinicopathologic and immunohistochemical study of 26 cases. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 1109-1118 [PMID: 10478672 DOI: 10.1097/00000478-199909000-00015]
- 6 Reith JD, Goldblum JR, Lyles RH, Weiss SW. Extragastric gastrointestinal (soft tissue) stromal tumors: an analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome. *Mod Pathol* 2000; 13: 577-585 [PMID: 10824931 DOI: 10.1038/modpathol.3880099]
- 7 贺慧颖, 方伟岗, 钟锦锦, 李燕, 郑杰, 杜娟, 衡万杰, 吴秉铨. 165例胃肠道间质瘤中*c-kit*和*PDGFRA*基因突变的检测和临床诊断意义. 中华病理学杂志 2006; 35: 262-266
- 8 林苏, 刘懿. 胃肠道间质瘤. 国外医学·消化系疾病分册 2005; (1): 25-28
- 9 孙现军, 徐忠法. 胃肠道间质瘤的诊断和治疗. 中华肿瘤防治杂志 2006; 13: 7-10
- 10 Li Y, Jiang Z, Xu L, Yao H, Guo J, Ding X. Stability analysis of liver cancer-related microRNAs. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 69-78 [PMID: 21173058 DOI: 10.1093/abbs/gmq114]
- 11 Xu J, Wu C, Che X, Wang L, Yu D, Zhang T, Huang L, Li H, Tan W, Wang C, Lin D. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. *Mol Carcinog* 2011; 50: 136-142 [PMID: 21229610 DOI: 10.1002/mc.20712]
- 12 Keld R, Guo B, Downey P, Gulmann C, Ang YS, Sharrocks AD. The ERK MAP kinase-PEA3/ETV4-MMP-1 axis is operative in oesophageal adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 313 [PMID: 21143918 DOI: 10.1186/1476-4598-9-313]
- 13 Dissanayake K, Toth R, Blakey J, Olsson O, Campbell DG, Prescott AR, MacKintosh C. ERK/p90(RSK)/14-3-3 signalling has an impact on expression of PEA3 Ets transcription factors via the transcriptional repressor capicua. *Biochem J* 2011; 433: 515-525 [PMID: 21087211 DOI: 10.1042/BJ20101562]
- 14 Keld R, Guo B, Downey P, Cummins R, Gulmann C, Ang YS, Sharrocks AD. PEA3/ETV4-related transcription factors coupled with active ERK signalling are associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105: 124-130 [PMID: 21673681 DOI: 10.1038/bjc.2011.187]
- 15 Chi P, Chen Y, Zhang L, Guo X, Wongvipat J, Shamu T, Fletcher JA, Dewell S, Maki RG, Zheng D, Antonescu CR, Allis CD, Sawyers CL. ETV1 is a lineage survival factor that cooperates with KIT in gastrointestinal stromal tumours. *Nature* 2010; 467: 849-853 [PMID: 20927104 DOI: 10.1038/nature09409]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



苏南地区无症状人群结直肠肿瘤发生风险评分系统的建立与验证

陈国昌, 毛伯能, 刘芊, 钱佶, 刘雷

陈国昌, 毛伯能, 刘芊, 钱佶, 刘雷, 江苏大学附属宜兴医院
消化内科 江苏省宜兴市 214200

陈国昌, 教授, 主任医师, 主要从事消化系恶性肿瘤筛查的研究。

无锡市科学技术局基金资助项目, No. CSZ00N1248

作者贡献分布: 此课题由陈国昌设计; 研究过程由毛伯能、刘芊、钱佶及刘雷共同操作完成; 数据分析由刘芊与钱佶完成; 本论文写作由陈国昌与毛伯能完成。

通讯作者: 陈国昌, 教授, 主任医师, 214200, 江苏省宜兴市通贞观路75号, 江苏大学附属宜兴医院消化内科。

staff167@yxph.com

电话: 0510-87330831 传真: 0510-87921110

收稿日期: 2013-08-29 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Derivation and validation of a prediction rule for estimating colorectal neoplasm risk in asymptomatic individuals in southern Jiangsu province

Guo-Chang Chen, Bo-Neng Mao, Qian Liu, Ji Qian, Lei Liu

Guo-Chang Chen, Bo-Neng Mao, Qian Liu, Ji Qian, Lei Liu, Department of Gastroenterology, Yixing Hospital, Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Supported by: the Wuxi Science and Technology Bureau Project, No. CSZ00N1248

Correspondence to: Guo-Chang Chen, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Yixing Hospital, Jiangsu University, 75 Tongzhenguan Road, Yixing 214200, Jiangsu Province, China. staff167@yxph.com

Received: 2013-08-29 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To develop a prediction rule to stratify risk for colorectal neoplasms in asymptomatic individuals in southern Jiangsu province, and to evaluate its screening efficiency.

METHODS: Asymptomatic persons in southern Jiangsu province who had complete colonoscopy data were included in this study. All participants were asked to complete a questionnaire which covered information on potential risk factors, including demographic characteristics, medical history, smoking, alcohol consumption, dietary intake, and other factors that may be

associated with colorectal neoplasms. A multivariable logistic regression method was used to identify independent predictors of colorectal neoplasms. A prediction rule was developed from the logistic regression model by using a regression coefficient-based scoring method, and then internally validated. The screening efficiency of the prediction rule was assessed by its calibration, discrimination, and accuracy.

RESULTS: A total of 905 asymptomatic persons were included in this study. The prediction rule comprised three variables (age, smoking, and alcohol consumption), with scores ranging from 0 to 6. The prediction rule had good calibration ($P = 0.093$) and good discrimination (area under the receiver operating characteristic curve = 0.65, 95%CI: 0.61-0.69). When a score of 1.5 was used as the screening cutoff value, the sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value, positive likelihood ratio, and negative likelihood ratio were 65.1%, 57.2%, 59.9%, 44.4%, 75.7%, 1.52, and 0.61, respectively.

CONCLUSION: The developed prediction rule had good screening efficiency and, thus, can be used as a preliminary method to screen colorectal neoplasms in asymptomatic individuals in southern Jiangsu province.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal neoplasms; Colonoscopy; Cross-sectional study; Screening; Risk factors

Chen GC, Mao BN, Liu Q, Qian J, Liu L. Derivation and validation of a prediction rule for estimating colorectal neoplasm risk in asymptomatic individuals in southern Jiangsu province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4043-4049 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4043.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4043>

摘要

目的: 建立苏南地区无症状人群结直肠肿瘤

■背景资料

多数散发性结直肠癌患者来自50岁以上的无症状平均风险人群。对该人群进行结肠镜筛查, 可以明显降低结直肠癌的发病率和死亡率。然而, 我国目前的卫生资源无法支持针对该人群的结肠镜筛查策略。

■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

■ 研究前沿

无症状平均风险人群的结直肠癌筛查策略是国内、外研究的热点,如何对该人群进行有效危险分层是目前研究的重点。

发生风险评估系统,并评价其筛查效能。

方法:以接受结肠镜检查的苏南地区籍无症状人群为研究对象,通过面对面调查获取其人口学特征、既往疾病史、吸烟史、饮酒史、饮食习惯等信息。采用多元Logistic回归分析方法建立结直肠肿瘤发生风险预测模型。根据模型中各变量的 β 值赋予分值,建立结直肠肿瘤发生风险评估系统,并进行内部人群验证。通过预测一致性、区分能力和筛查准确度评价评分系统的筛查效能。

结果:共纳入905例合格研究对象。所建立的评分系统由年龄、吸烟、饮酒3个变量组成,分值范围为0-6分,其预测的一致性较好($P=0.093$),区分能力较好(受试者工作特性曲线下面积为0.65, 95%CI: 0.61-0.69)。以1.5分作为筛查界值,其敏感度、特异度、准确率、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比、阴性似然比分别为65.1%、57.2%、59.9%、44.4%、75.7%、1.52和0.61。

结论:所建立的结直肠肿瘤发生风险评估系统具有较好的筛查效能,可以作为结直肠肿瘤的初筛工具,应用于苏南地区无症状平均风险人群的结直肠肿瘤筛查。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:结直肠肿瘤;结肠镜;横断面研究;筛查;危险因素

核心提示:本研究所建立的结直肠肿瘤发生风险评估系统由年龄、吸烟、饮酒等3个变量组成,具有较好的区分度,较高的敏感度和阴性预测值,适用于苏南地区无症状平均风险人群结直肠肿瘤初筛,可明显提高筛查效能。

陈国昌, 毛伯能, 刘芊, 钱皓, 刘雷. 苏南地区无症状人群结直肠肿瘤发生风险评估系统的建立与验证. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4043-4049 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4043.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4043>

0 引言

结直肠肿瘤是我国常见恶性肿瘤之一,近20年来其发病率和死亡率均呈明显上升趋势^[1,2]。结直肠肿瘤主要包括结直肠癌、结直肠腺瘤和结直肠息肉^[3]。目前认为,结直肠癌大多由腺瘤性息肉发展而来,70%-75%新诊断的结直肠癌患者来自于50岁以上的无症状平均风险人群^[4]。所

谓无症状平均风险人群,是指无结直肠癌相关症状或预警症状、无结直肠癌和结直肠腺瘤性息肉病史及家族史、无遗传性结直肠癌和炎症性肠病病史的人群^[4]。对无症状平均风险人群进行结肠镜筛查,可以发现早期结直肠癌和癌前病变并进行及时治疗。所以,可望有效降低该人群结直肠癌的发病率和死亡率^[5]。然而,我国目前的卫生资源无法支持针对全人群的结肠镜筛查策略^[6]。研究表明,平均风险人群并非等同于低风险人群^[4,7]。如果利用容易获得的信息,如年龄、性别等,对无症状平均风险人群的结直肠肿瘤患病风险进行准确预测(危险分层),然后针对其中患病风险较高的人群再进行结肠镜筛查,必将大大提高筛查效能,降低人群筛查费用。本文拟通过研究、探讨我国苏南地区汉族无症状人群结直肠肿瘤发生风险的最佳预测因子,在此基础上建立该人群结直肠肿瘤发生风险评估系统,并评价其作为结直肠肿瘤初筛工具的有效性。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象为2011-07/2012-12在江苏大学附属宜兴医院进行常规健康体检时,接受结肠镜检查的苏南地区籍无症状平均风险人群。纳入标准:拟行结肠镜检查;年龄 ≥ 40 岁;汉族;无症状或仅有结直肠非特异症状(轻微腹痛、间歇腹泻或便秘)的体检人群。排除标准:(1)一、二级亲属有结直肠肿瘤史;(2)60岁以下一级亲属中有腺瘤性息肉病史或家族遗传性综合征(包括家族性腺瘤性息肉病、遗传性非息肉性结直肠癌、Turcot综合征、Oldfield综合征等);(3)有结直肠癌或息肉病、炎症性肠病、其他器官肿瘤等病史;(4)有缺铁性贫血或粪便隐血试验阳性、便血、体重明显减轻、里急后重等症状;(5)近5年结肠镜检查史;(6)结直肠手术史。

1.2 方法 采用横断面研究设计。在结肠镜检查前进行问卷调查,调查内容包括人口学特征、既往疾病史、手术史、服药史、吸烟史、饮酒史、饮茶史、体力活动情况、饮食习惯、排便频率等。由经验丰富的2名消化内镜专家进行结肠镜检查操作,并负责填写结肠镜检查结果。结直肠肿瘤包括息肉和浸润癌。息肉病理类型分为腺瘤性息肉、增生性息肉、炎症性息肉和未能确定类型的息肉。腺瘤性息肉进一步分为管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤和重度不典型增生。重度不典型增生包括黏膜内癌和

原位癌。浸润癌是指恶性细胞浸润超过黏膜肌层的肿瘤。只有肠道准备良好、完成全结肠检查(结肠镜到达回盲瓣)的研究对象才被纳入统计学分析。

统计学处理 采用EpiData3.02软件, 通过双录入核查方式建立数据库。采用SPSS19.0软件对数据进行统计分析。所有分析均为双侧检验。多因素分析的检验水准为0.05。(1)结直肠癌发生风险预测模型及其评分系统的建立与评价: 以结肠镜检查结果(结直肠癌有或无)作为应变量, 以人口学特征等其他变量作为自变量, 进行单因素分析和多因素分析。根据自变量的数据性质, 分别采用两组资料 t 检验、Mann-Whitney U 检验、 χ^2 检验等方法进行单因素分析。选择单因素分析结果中 $P<0.10$ 的自变量作为潜在的结直肠癌预测变量, 采用多元Logistic回归分析方法进行多因素分析, 建立结直肠癌发生风险预测模型。为了便于临床应用, 将上述模型中的连续性变量转换成分类变量后重新进行多元Logistic回归分析, 根据新Logistic回归模型中各变量的 β 值赋予分值^[6,8], 建立结直肠癌发生风险评分系统。风险预测的一致性评价采用Hosmer-Lemeshow拟合优度检验方法。风险预测模型及其评分系统的区分能力通过受试者工作特性曲线(ROC曲线)下面积进行评价^[6,8]。准确度评价采用敏感度、特异度、准确率、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比、阴性似然比;(2)结直肠癌发生风险评分系统的内部人群验证: 采用非参数Bootstrap方法进行验证^[6,9];(3)与其他类似评分系统的比较: 已报道的类似评分系统包括Cai等^[6]、Yeoh等^[10]、Betés等^[11]和Lin等^[12]建立的评分系统。分别计算上述4个评分系统在本研究人群中的ROC曲线下面积及其95%可信区间。采用 U 检验方法比较本研究所建立的评分系统与上述4个评分系统ROC曲线下面积的差异性。

2 结果

2.1 研究对象特征 共纳入985例合格研究对象, 其中905例(91.9%)完成了全结肠检查, 被纳入后续的统计分析。在905例研究对象中, 男性393例(43.4%), 平均年龄 56.6 ± 10.1 岁。312例(5.3%)结直肠癌中, 息肉占90.1%(281/312), 浸润癌占9.9%(31/312)。在息肉病理类型中, 腺瘤性息肉、增生性息肉、炎症性息肉和未能确定类型息肉的例数分别为100例(35.6%)、72例

(25.6%)、62例(22.1%)和47例(16.7%)。在腺瘤性息肉中, 管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤和重度不典型增生的例数分别为57例(57%)、35例(35%)、6例(6%)和2例(2%)。

2.2 结直肠癌发生风险预测模型及其评分系统的建立与评价 单因素分析结果显示, 年龄、性别、教育程度、高血压、冠心病、胆囊手术史、吸烟、饮酒、红肉(猪、牛、羊肉任意一种)摄入是结直肠癌发生风险的潜在预测因子($P<0.10$)(表1)。多因素分析结果显示, 年龄、吸烟、饮酒是结直肠癌发生风险的独立预测因子(表1)。Hosmer-Lemeshow拟合优度检验结果显示, Logistic回归模型的拟合优度良好($P=0.093$)。ROC曲线下面积(95%CI)为0.66(0.62-0.69)($P<0.01$), 说明Logistic回归模型的区分度尚可。

为了便于临床应用, 将上述模型中的连续性变量“年龄”转换成分类变量后重新进行多元Logistic回归分析(表2)。ROC曲线下面积(95%CI)为0.66(0.62-0.69)($P<0.001$), 新模型的区分度与原模型的区分度相同。基于新Logistic回归模型建立的结直肠癌发生风险评分系统由3个变量组成(年龄、吸烟、饮酒), 分值范围为0-6分(表2)。随着分值增高, 研究对象中结直肠癌患者的比例呈增高趋势(表3)。评分系统的ROC曲线分析结果显示, ROC曲线下面积(95%CI)为0.65(0.61-0.69)($P<0.001$), 说明其区分度尚可。

基于评分系统ROC曲线, 以1.5分作为界值, 将研究对象划分为结直肠癌低风险人群(448例, 49.5%)和高风险人群(457例, 50.5%)(表3)。高风险人群(>1 分)中结直肠癌的比例为44.4%(203/457), 显著高于低风险人群(0-1分)中结直肠癌的比例(24.3%, 109/448)($P<0.001$)(表3)。预测界值下评分系统筛查工具的敏感度、特异度、准确率、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比、阴性似然比分别为65.1%、57.2%、59.9%、44.4%、75.7%、1.52和0.61。高风险人群中包含了65.1%(203/312)的结直肠癌病例。

2.3 结直肠癌发生风险评分系统的内部人群验证 非参数Bootstrap方法验证结果显示, 评分系统的平均ROC曲线下面积(95%CI)为0.66(0.62-0.68), 与建模人群的ROC曲线分析结果相似。

2.4 与其他类似评分系统的比较 在5种评分系统中, 本文所建立的评分系统的区分度最好, 但与其他4种评分系统的区分度均无明显差别($P>0.05$)(表4)。

■ 相关报道

Cai等建立汉族无症状平均风险人群结直肠进展期肿瘤发生风险评分系统。该评分系统由年龄、性别、吸烟、糖尿病史、蔬菜摄入、腌制食品摄入、油炸食品摄入、白肉摄入等8个变量组成, 分值范围0-14分。建议高风险人群(>3 分)进行结肠镜筛查。

■ 创新盘点

结直肠肿瘤主要包括结肠癌、结直肠腺瘤和结直肠息肉。本研究首次建立了苏南地区无症状平均风险人群结直肠肿瘤发生风险评分系统。与国内外报道的结直肠进展期腺瘤或进展期肿瘤发生风险评分系统相比, 本研究所建立的危险分层评分工具对于苏南地区人群具有更高的区分度。

表 1 结直肠肿瘤危险因素的单因素分析和多因素分析结果

变量	总例数(<i>n</i> = 905)	有结直肠肿瘤(<i>n</i> = 312)			无结直肠肿瘤(<i>n</i> = 593)			<i>P</i> 值 ¹	OR值 ²	95%CI ^c	<i>P</i> 值 ^d
		<i>n</i>	%	mean ± SD	<i>n</i>	%	mean ± SD				
分类变量											
性别								< 0.001			
男	393	167	42.5		226	57.5					
女	512	145	28.3		367	71.7					
教育程度								0.054			
文盲或小学	430	162	37.7		268	62.3					
中学或以上	475	150	31.6		325	68.4					
高血压								0.043			
有	211	85	40.3		126	59.7					
无	694	227	32.7		467	67.3					
糖尿病								0.213			
有	44	19	43.2		25	56.8					
无	861	293	34.0		568	66.0					
高血脂								0.102			
有	33	7	21.2		26	78.8					
无	872	305	35.0		567	65.0					
冠心病								0.001			
有	16	12	75.0		4	25.0					
无	889	300	33.7		589	66.3					
胃手术史								0.657			
有	17	5	29.4		12	70.6					
无	888	307	34.6		581	65.4					
胆囊手术史								0.012			
有	50	9	18.0		41	82.0					
无	855	303	35.4		552	64.6					
阑尾手术史								0.438			
有	78	30	38.5		48	61.5					
无	827	282	34.1		545	65.9					
阿司匹林服用								0.298			
有	21	5	23.8		16	76.2					
无	884	307	34.7		577	65.3					
吸烟								< 0.001			
有	210	100	47.6		110	52.4			1.64	1.13, 2.37	0.009
无	695	212	30.5		483	69.5			1		
饮酒								< 0.001			
有	143	70	49.0		73	51.0			1.66	1.08, 2.54	0.020
无	762	242	31.8		520	68.2			1		
饮茶								0.117			
经常	191	75	39.3		116	60.7					
偶尔	714	237	33.2		477	66.8					
体力活动								0.502			
轻度	169	62	36.7		107	63.3					
中度或重度	736	250	34.0		486	66.0					
绿色蔬菜摄入								0.310			
经常	880	301	34.2		579	65.8					
偶尔	25	11	44.0		14	56.0					
水果摄入								0.173			
经常	472	153	32.4		319	67.6					
偶尔	433	159	36.7		274	63.3					
牛奶摄入								0.306			

经常	88	26	29.5	62	70.5	
偶尔	817	286	35.0	531	65.0	
蛋类摄入						0.731
经常	419	142	33.9	277	66.1	
偶尔	486	170	35.0	316	65.0	
腌制食品摄入						0.920
经常	132	45	34.1	87	65.9	
偶尔	773	267	34.5	506	65.5	
油炸熏制食品摄入						0.990
经常	32	11	34.4	21	65.6	
偶尔	873	301	34.5	572	65.5	
竹笋摄入						0.374
经常	195	62	31.8	133	68.2	
偶尔	710	250	35.2	460	64.8	
红肉摄入 ³						0.031
经常	630	203	32.2	427	67.8	
偶尔	275	109	39.6	166	60.4	
白肉摄入 ⁴						0.199
经常	642	213	33.2	429	66.8	
偶尔	263	99	37.6	164	62.4	
排便频率						0.289
2日或以上1次	219	82	37.4	137	62.6	
每日1次或以上	686	230	33.5	456	66.5	
连续变量						
年龄(岁)			59.2 ± 10.1	55.2 ± 9.9	< 0.001	1.04 1.03, 1.06 < 0.001
体质质量指数(kg/m ²)			23.4 ± 2.7	23.2 ± 3.0	0.374	

■应用要点
本研究所建立的评分系统可以应用于苏南地区无症状平均风险人群结直肠肿瘤的初筛。对于低风险人群(0-1分), 定期随访或进行粪便隐血试验检查即可; 而对于高风险人群(>1分), 建议进行结肠镜筛查, 以发现潜在的结直肠病变。

¹单因素分析结果; ²多因素分析结果; ³红肉包括猪、牛、羊肉; ⁴白肉包括鸡、鸭、鱼肉。

表 2 新Logistic回归模型及其评分系统

变量	β值	OR值	95%CI	P值	分值
年龄(岁)					
40-49		1			0
50-59	0.353	1.42	0.97, 2.09	0.072	1
60-69	0.779	2.18	1.49, 3.19	<0.001	2
>69	1.317	3.73	2.26, 6.15	<0.001	4
吸烟					
无		1			0
有	0.509	1.66	1.15, 2.41	0.007	1
饮酒					
无		1			0
有	0.495	1.64	1.07, 2.51	0.023	1

3 讨论

本研究所建立的结直肠肿瘤发生风险评分系统由年龄、吸烟、饮酒等3个变量组成, 具有良好的预测一致性, 较好的区分度, 较高的敏感度和阴性预测值, 可以应用于苏南地区无症状平均风险人群结直肠肿瘤的初筛。对于被评分系统筛查工具判断为低风险的人群, 定期随访或进

行粪便隐血试验检查即可; 而对于高风险人群, 建议进行全结肠检查, 以发现潜在的结直肠病变。本研究结果有助于建立具有苏南地区特色的结直肠肿瘤筛查策略, 从而明显提高苏南地区结直肠肿瘤筛查的效能, 降低筛查费用, 节约卫生资源。

大量证据显示, 本研究所建立的结直肠肿瘤发生风险评分系统是有效和可信的, 可以作为结直肠肿瘤初筛工具, 应用于苏南地区无症状平均风险人群的结直肠肿瘤筛查。首先, 我们的研究结果显示, 无论是建模还是内部人群验证, 该评分系统均表现出较好的区分度, 可以较为准确地区分高风险人群和低风险人群。其次, 该评分系统的敏感度尚可(65.1%), 高风险人群包含了多数结直肠肿瘤病例, 且其阴性预测值较高(75.7%), 所以, 可以作为结直肠肿瘤的初筛工具应用于人群筛查; 第三, 该评分系统仅由3个变量组成, 方便易用, 与已报道的类似评分系统相比, 具有相似的区分度, 适合于苏南地区人群的结直肠肿瘤筛查; 第四, 采用基于本研究结果的危险分层筛查策略, 在减少

■同行评价

本文立意新颖, 相关报道不多, 统计学处理很好, 具有一定指导意义。

表 3 各种危险得分和不同危险分类结直肠肿瘤的发生风险

危险得分	n	结直肠肿瘤		危险分类	n	%	结直肠肿瘤	
		n	%				n	%
					905	100.0	312	34.5
0	184	28	15.2	低风险(0-1)	448	49.5	109	24.3
1	264	81	30.7					
2	243	92	37.9	高风险(>1)	457	50.5	203	44.4
3	84	43	51.2					
4	107	57	53.3					
5	13	5	38.5					
6	10	6	60.0					

表 4 与现有结直肠肿瘤评分系统的比较

评分系统	包含的变量数	分值范围	ROC曲线下面积	95%CI	P值 ¹
陈国昌等(本研究)	3	0-6	0.65	0.61-0.69	
Cai等 ^[6]	8	0-14	0.63	0.59-0.67	0.412
Yeoh等 ^[10]	4	0-7	0.63	0.59-0.67	0.459
Bet é s等 ^[11]	3	0-8	0.65	0.61-0.68	0.849
Lin等 ^[12]	3	0-6	0.64	0.60-0.68	0.682

¹其他各评分系统分别与本研究所建立的评分系统的比较。

49.5%(448/905)结肠镜检查例数的情况下, 可以筛查出65.1%(203/312)的病例, 所以, 这种策略明显提高了人群筛查效率。第5, 我们的研究发现, 年老、吸烟、饮酒是结直肠肿瘤的独立危险因素, 这与文献报道的结果相一致^[13-17]。已有大量研究证实, 随着年龄增加, 结直肠癌的发病风险明显增大, 所以国外筛查指南建议从50岁开始针对无症状平均风险人群进行结直肠癌筛查^[13]。多数研究结果表明, 吸烟可以明显增加结直肠肿瘤的发病风险^[14,15], 所以国外筛查指南将吸烟量>20包年的人群作为结直肠肿瘤的高危人群进行重点筛查^[13]。来自于多个不同种族人群的研究结果证实, 饮酒可以明显增加结直肠肿瘤的发病风险^[16,17]。

本研究可能存在以下主要缺陷: (1)由于样本量相对较少(合格研究对象905例, 其中结直肠肿瘤312例), 所以, 只能将所有研究对象用于建模。本研究结果需要在更大的外部人群中进一步进行验证。(2)本研究采用横断面研究设计, 很多潜在危险因素的资料来自于研究对象的回忆, 可能存在回忆偏倚。尽管存在上述缺陷, 我们的研究结果显示, 我们所建立的评分系统仍然是有效和可信的。

总之, 本研究所建立的结直肠肿瘤发生风险评分系统具有良好的预测一致性, 较好的区分度, 较高的敏感度和阴性预测值。研究结果有助于建立具有苏南地区特色的结直肠肿瘤筛查策略。该评分系统应用于苏南地区无症状平均风险人群的结直肠肿瘤初筛, 可望明显提高苏南地区结直肠肿瘤筛查的效能, 降低筛查费用, 节约卫生资源。

志谢: 感谢第二军医大学临床流行病学与循证医学中心蔡全才教授和钱维助理研究员在研究设计、资料统计分析方面给予的大力帮助。

4 参考文献

- 1 陈万青, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 赵平, 赫捷. 1989-2008年中国恶性肿瘤发病趋势分析. 中华肿瘤杂志 2012; 34: 517-524
- 2 任建松, 李倩, 关鹏, 代敏, 杨玲. 中国2008年消化道常见恶性肿瘤发病、死亡和患病情况的估计及预测. 中华流行病学杂志 2012; 33: 1052-1055
- 3 吕翔, 王益华, 戴小波. 消化系统肿瘤病理学. 第1版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2008: 251-327
- 4 Nelson RS, Thorson AG. Colorectal cancer screening. *Curr Oncol Rep* 2009; 11: 482-489 [PMID: 19840526 DOI: 10.1007/s11912-009-0065-8]
- 5 Schoenfeld P, Cash B, Flood A, Dobhan R, Eastone J, Coyle W, Kikendall JW, Kim HM, Weiss DG, Emory T, Schatzkin A, Lieberman D. Colonoscopic screen-

- ing of average-risk women for colorectal neoplasia. *N Engl J Med* 2005; 352: 2061-2068 [PMID: 15901859 DOI: 10.1056/NEJMoa042990]
- 6 Cai QC, Yu ED, Xiao Y, Bai WY, Chen X, He LP, Yang YX, Zhou PH, Jiang XL, Xu HM, Fan H, Ge ZZ, Lv NH, Huang ZG, Li YM, Ma SR, Chen J, Li YQ, Xu JM, Xiang P, Yang L, Lin FL, Li ZS. Derivation and validation of a prediction rule for estimating advanced colorectal neoplasm risk in average-risk Chinese. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 584-593 [PMID: 22328705 DOI: 10.1093/aje/kwr337]
 - 7 Lieberman D. Screening for colorectal cancer in average-risk populations. *Am J Med* 2006; 119: 728-735 [PMID: 16945604 DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.037]
 - 8 Moons KG, Harrell FE, Steyerberg EW. Should scoring rules be based on odds ratios or regression coefficients? *J Clin Epidemiol* 2002; 55: 1054-1055 [PMID: 12464384 DOI: 10.1016/S0895-4356(02)00453-5]
 - 9 Steyerberg EW, Bleeker SE, Moll HA, Grobbee DE, Moons KG. Internal and external validation of predictive models: a simulation study of bias and precision in small samples. *J Clin Epidemiol* 2003; 56: 441-447 [PMID: 12812818 DOI: 10.1016/S0895-4356(03)00047-7]
 - 10 Yeoh KG, Ho KY, Chiu HM, Zhu F, Ching JY, Wu DC, Matsuda T, Byeon JS, Lee SK, Goh KL, Sollano J, Rerknimitr R, Leong R, Tsoi K, Lin JT, Sung JJ. The Asia-Pacific Colorectal Screening score: a validated tool that stratifies risk for colorectal advanced neoplasia in asymptomatic Asian subjects. *Gut* 2011; 60: 1236-1241 [PMID: 21402615 DOI: 10.1136/gut.2010.221168]
 - 11 Betés M, Muñoz-Navas MA, Duque JM, Angós R, Macías E, Súbtíl JC, Herraiz M, De La Riva S, Delgado-Rodríguez M, Martínez-González MA. Use of colonoscopy as a primary screening test for colorectal cancer in average risk people. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2648-2654 [PMID: 14687811 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.08771.x]
 - 12 Lin OS, Kozarek RA, Schembre DB, Ayub K, Gluck M, Cantone N, Soon MS, Dominitz JA. Risk stratification for colon neoplasia: screening strategies using colonoscopy and computerized tomographic colonography. *Gastroenterology* 2006; 131: 1011-1019 [PMID: 17030171 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.015]
 - 13 Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 739-750 [PMID: 19240699 DOI: 10.1038/ajg.2009.104]
 - 14 Stürmer T, Glynn RJ, Lee IM, Christen WG, Hennekens CH. Lifetime cigarette smoking and colorectal cancer incidence in the Physicians' Health Study I. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1178-1181 [PMID: 10904092 DOI: 10.1093/jnci/92.14.1178]
 - 15 Chao A, Thun MJ, Jacobs EJ, Henley SJ, Rodriguez C, Calle EE. Cigarette smoking and colorectal cancer mortality in the cancer prevention study II. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1888-1896 [PMID: 11106680 DOI: 10.1093/jnci/92.23.1888]
 - 16 Peng XE, Jiang YY, Shi XS, Hu ZJ. NQO1 609C>T polymorphism interaction with tobacco smoking and alcohol drinking increases colorectal cancer risk in a Chinese population. *Gene* 2013; 521: 105-110 [PMID: 23458878 DOI: 10.1016/j.gene.2013.02.029]
 - 17 Ferrari P, McKay JD, Jenab M, Brennan P, Canzian F, Vogel U, Tjønneland A, Overvad K, Tolstrup JS, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Boeing H, Bergmann M, Trichopoulos A, Katsoulis M, Trichopoulos D, Krogh V, Panico S, Sacerdote C, Palli D, Tumino R, Peeters PH, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita B, Vrieling A, Lund E, Hjärtåker A, Agudo A, Suarez LR, Arriola L, Chirlaque MD, Ardanaz E, Sánchez MJ, Manjer J, Lindkvist B, Hallmans G, Palmqvist R, Allen N, Key T, Khaw KT, Slimani N, Rinaldi S, Romieu I, Boffetta P, Romaguera D, Norat T, Riboli E. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphisms, alcohol intake and the risk of colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66: 1303-1308 [PMID: 23149980 DOI: 10.1038/ejcn.2012.173]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



KLK10和HER-2/neu基因在结肠癌中的表达及临床意义

朱晓亮, 刘伟中, 饶雪峰, 袁 晟

■背景资料

人组织激肽释放酶10(kallikreins 10, KLK10)是一种分泌型丝氨酸蛋白酶, 起调节上皮细胞生长分化的作用。近年研究发现KLK10参与内分泌肿瘤的发生发展。人类表皮生长因子受体2(human epidermal receptor 2, HER-2)/neu基因属于表皮生长因子受体家族中的一员, 是一种原癌基因, 在许多恶性肿瘤中出现不同程度的表达。目前KLK10和HER-2/neu在肿瘤的发生发展中是否共同起作用研究少。

朱晓亮, 刘伟中, 饶雪峰, 袁晟, 江西省人民医院普外科 江西省南昌市 330006

朱晓亮, 主治医师, 主要从事普外科的相关研究。

作者贡献分布: 课题设计由朱晓亮与饶雪峰共同设计; 课题指导由刘伟中完成; 样本采集由袁晟完成; 研究过程由朱晓亮与饶雪峰共同操作完成; 试剂与分析工具由朱晓亮提供; 数据分析由朱晓亮与饶雪峰完成; 论文写作由朱晓亮与饶雪峰共同完成。

通讯作者: 饶雪峰, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市爱国路92号, 江西省人民医院普外科。babyguo2008@163.com

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-18

Clinical significance of KLK10 and HER-2/neu expression in colon cancer

Xiao-Liang Zhu, Wei-Zhong Liu, Xue-Feng Rao, Sheng Yuan

Xiao-Liang Zhu, Wei-Zhong Liu, Xue-Feng Rao, Sheng Yuan, Department of General Surgery, Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Xue-Feng Rao, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Jiangxi Provincial People's Hospital, 92 Aiguo Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. babyguo2008@163.com

Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of kallikreins10 (KLK10) and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2/neu) in colon cancer and analyze the correlation of KLK10 and HER-2 expression with clinical and pathological parameters of colon cancer.

METHODS: Sixty-seven colon cancer specimens, 10 colorectal adenoma specimens and 10 normal colon tissue specimens were used in the study. Immunohistochemistry was used to detect KLK10 and HER-2/neu expression in these specimens. The correlation of KLK10 and HER-2/neu expression with clinical and pathological parameters of colon cancer was analyzed.

RESULTS: KLK10 and HER-2/neu expression levels were significantly higher in colon cancer than in colorectal adenoma specimens and normal

colon tissue specimens (all $P < 0.05$). KLK10 expression in colon cancer was correlated positively with TNM stage, degree of differentiation, lymph node metastasis (all $P < 0.05$), but not with age, sex, tumor size, pathological type, or distant metastasis (all $P > 0.05$). HER-2/neu expression in colon cancer was correlated positively with TNM stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$), but not with age, sex, tumor size, pathological type, distant metastasis or differentiation degree (all $P > 0.05$). KLK10 expression was correlated positively with HER-2/neu expression in colon cancer ($r = 0.260$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: KLK10 and HER-2/neu may play a critical role in the development, progression, metastasis and angiogenesis of colon cancer. KLK10 and HER-2/neu expression can be used as important prognostic factors for colon cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Kallikreins 10; Human epidermal receptor 2/neu; Oncogene

Zhu XL, Liu WZ, Rao XF, Yuan S. Clinical significance of KLK10 and HER-2/neu expression in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4050-4055 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4050.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4050>

摘要

目的: 分析人组织激肽释放酶10(kallikreins 10, KLK10)和人类表皮生长因子受体2(human epidermal receptor 2, HER-2)/neu与结肠癌临床病理之间的关系, 探讨其与结肠癌临床预后的关系和他们之间的相关性。

方法: 用MaxVision™免疫组织化学方法检测的67例结肠癌患者的病理标本, 10例结肠腺瘤组织以及10例正常结肠组织KLK10和HER-2/neu单/多克隆抗体在结肠癌、结肠腺瘤及正常结肠组织的表达情况, 并对其结果进行了统计学分析。

结果: KLK10和HER-2/neu在结肠癌的阳性率

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

分别均为62.7%(42/67), 56.7%(38/67); *KLK10*和*HER-2/neu*在结肠癌组织中的表达明显高于结肠腺瘤及正常结肠黏膜组织中的表达, 差异有显著性统计学意义($P<0.05$); 在结肠癌组织中*KLK10*表达与结肠癌的TNM分期、分化程度、淋巴结转移呈正相关($P<0.05$), 结肠癌组织中*KLK10*的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、远处转移均无相关性($P>0.05$). 在结肠癌组织中*HER2*表达与结肠癌的TNM分期、淋巴结转移呈正相关($P<0.05$), 结肠癌组织中*HER2/neu*的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、分化程度、远处转移均无相关性($P>0.05$); 在结肠癌组织中*KLK10*的表达与*HER-2/neu*的表达呈正相关($r=0.260, P<0.05$).

结论: 结肠癌组织中*KLK10*和*HER-2/neu*的阳性表达率明显高于结肠良性病变及正常结肠组织. 在结肠癌组织中*KLK10*表达和*HER-2/neu*表达呈正相关. *KLK10*和*HER-2/neu*表达在结肠癌的发生发展过程中以及淋巴结转移过程中起重要作用. 因此可以作为临床判定结肠癌预后的参考指标.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠癌; 人组织型激肽释放酶10; 人类表皮生长因子受体2; 癌基因

核心提示: 人组织激肽释放酶10(kallikreins 10)和人类表皮生长因子受体2(human epidermal receptor 2)/*neu*在结肠癌组织中的表达均升高, 他们具有正相关性, 在结肠癌的发生发展过程中起重要作用, 因此认为他们共同促进结肠癌浸润转移, 并可成为临床判定预后的良好指标.

朱晓亮, 刘伟中, 饶雪峰, 袁晟. *KLK10*和*HER-2/neu*基因在结肠癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4050-4055 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4050.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4050>

0 引言

大肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 据统计其发病率处于第2位^[1], 仅次于肺癌, 严重威胁人类的生命健康安全. 肿瘤的发生发展是多步骤、多层次、多基因参与以及多种转录因子调控的复杂过程. 涉及细胞的增殖、黏附、分化、运动、凋亡等多个环节因素. 人组织激肽释放酶10(kallikreins 10, *KLK10*)基因作为人组织型激肽释放酶家族成员之一, 他是一种分泌型丝氨酸蛋白酶, 具有胰岛素样的酶活性, 起

调节上皮细胞生长分化的作用. 近年研究发现*KLK10*参与内分泌肿瘤的发生发展^[2]. 人类表皮生长因子受体2(human epidermal receptor 2, *HER-2*)即*HER-2/neu*基因又名*c-erbB-2*基因, 属于表皮生长因子受体家族中的一员, 是一种原癌基因. *HER-2/neu*基因的扩增在许多恶性肿瘤中出现不同程度的表达, 尤其是上皮源性的肿瘤, 如乳腺癌、肺癌、卵巢癌、胃癌、结直肠癌等. 本研究通过免疫组织化学方法, 检测*KLK10*和*HER-2/neu*在结肠癌、结肠腺瘤、正常结肠组织中的表达和临床病理关系, 分析*KLK10*和*HER-2/neu*是否能成为判断结肠癌的新标志物以及两者在结肠癌中的相互作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选用江西省人民医院2011-01/2013-01经病理确诊为结肠癌的病例组织(具有肿瘤原发病灶组织的蜡块标本), 所有病例均为第1次完整手术切除, 手术前未经过放疗、化疗等针对肿瘤的任何治疗且手术前后有完整的病案资料, 术后全程随访资料. 标本有67例年龄在21-93岁之间(平均年龄63.1岁), 其中年龄 >60 岁的有44例, ≤ 60 岁的有23例; 男性41例, 女性26例; 结肠癌多个病灶时, 肿瘤大小以最大肿瘤的最大直径衡量, 肿瘤直径 >5 cm组26例, 直径 ≤ 5 cm组41例; 管状腺癌57例, 黏液腺癌10例; 分化程度高分化7例, 中分化50例, 低分化10例; TNM分期 I 期13例, II 期25例, III期20例, IV期9例; 有淋巴结转移25例, 无淋巴结转移42例; 有远处转移(肝转移2例, 网膜转移2例, 腹膜转移2例, 输尿管转移1例, 膀胱转移1例, 子宫转移1例)9例, 无远处转移58例. 符合以上条件的67例结肠癌标本作为实验组; 同时取同期10例结肠腺瘤(取自结肠腺瘤切除术)和10例正常结肠组织(取自结肠外伤手术组织)作为对照组. 一抗兔抗人*KLK10*多克隆抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司); 一抗兔抗人*HER-2/neu*单克隆抗体(福州迈新生物技术有限公司); 浓缩型MaxvisionTM试剂盒(福州迈新生物技术有限公司); 抗原修复方法采用高温高压柠檬酸盐缓冲液煮沸法. 一抗浓度1:200, 免疫组织化学采用MaxvisionTM/HRP法检测*KLK10*和*HER-2/neu*在结肠癌中的表达情况. PBS缓冲液替代一抗作为阴性对照. 以美国Santa Cruz Biotechnology公司的标准阳性片脑癌标本和福州迈新生物技术有限公司的标准阳性片乳腺癌标本作为阳性对照.

■研究前沿 肿瘤的发生发展是多步骤、多层次、多基因参与的复杂过程, 涉及细胞的增殖、黏附、分化、运动、凋亡等多个环节因素; 目前国内外对肿瘤的肿瘤效果欠佳; 本项目分析*KLK10*和*HER-2/neu*与结肠癌临床病理之间的关系, 探讨其与结肠癌临床预后的关系和他们之间的相关性, 为肿瘤的进一步研究提供理论基础.

■ 相关报道

研究发现KLK10在一些恶性肿瘤组织中出现高表达或低表达,尤其是一些内分泌肿瘤,但致癌机制尚不明确。*HER-2/neu*基因的扩增在许多恶性肿瘤中出现不同程度的表达,尤其是上皮源性的肿瘤,如乳腺癌、肺癌、卵巢癌、胃癌、结肠直肠癌等,但他们是否具有正相关性尚未见研究。

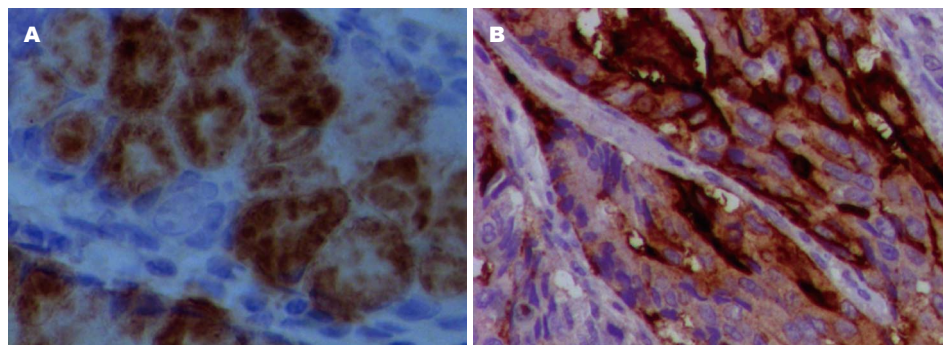


图1 结肠癌中KLK10和HER-2/neu免疫组织化学(染色强阳性×400)。A: KLK10; B: HER-2/neu。KLK10: 人组织激肽释放酶10; HER-2: 人类表皮生长因子受体2。

表1 KLK10及HER-2/neu在结肠癌、结肠息肉、正常结肠组织中的表达

分组	n	KLK10				HER-2/neu			
		-	+	阳性率(%)	P值	-	+	阳性率(%)	P值
结肠癌	67	25	42	62.7	<0.05	29	38	56.7	<0.05
结肠息肉	10	8	2	20.0		9	1	10.0	
正常肠细胞	10	9	1	10.0		10	0	0.0	

KLK10: 人组织激肽释放酶10; HER-2: 人类表皮生长因子受体2。

1.2 方法 KLK10的表达位于细胞浆内, HER2/neu的表达位于细胞膜上。KLK10和HER2/neu的阳性染色表达均为大小不一的黄色或棕黄色颗粒。综合考虑切片中阳性细胞占所观察同类细胞的百分比和阳性细胞着色强度两项指标来判定结果。根据阳性细胞比评分+染色评分得出总分, 每例随机选择10个高倍视野(×400), (1)根据显色程度判断阳性强度: 标本无色为0分; 淡黄色为1分; 棕黄色为2分; 棕黑色为3分; (2)根据阳性细胞占观察细胞的比例分为: 阳性细胞数≤10%为1分; 11%-50%为2分; 51%-75%为3分; >75%为4分。两项分数之和: <2分为阴性(-); 2-3分为弱阳性(+); 4-5分为中度阳性(++); 6-7分为强阳性(+++)。在双盲的情况下由2名病理科副主任医师对每张切片行全面观察。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件处理实验数据。计数资料采用 χ^2 检验, 相关性检验用Spearman等级相关法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KLK10和HER2/neu在结肠癌、结肠息肉、正常结肠组织中的表达 KLK10的蛋白阳性产物主要表达于细胞浆(图1A), 而HER2/neu的蛋白阳性产物主要表达于细胞膜(图1B)。67例结肠癌组织中KLK10的阳性表达42例, 阳性率62.7%;

10例结肠息肉组织中KLK10的阳性表达2例, 阳性率20%; 10例正常结肠组织中KLK10的阳性表达1例, 阳性率10%。67例结肠癌组织中HER2/neu的阳性表达38例, 阳性率56.7%; 10例结肠息肉组织中HER2/neu的阳性表达1例, 阳性率10%; 10例正常结肠组织中无HER2/neu的阳性表达。KLK10和HER2/neu在结肠癌组织中的表达率比在结肠息肉及正常结肠组织中明显高, 有显著差异(χ^2 分别为14.227和16.858, $P<0.05$)(表1)。

2.2 KLK10和HER2/neu表达与结肠癌临床病理参数之间关系 结肠癌组织中KLK10的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、远处转移均无相关性($P>0.05$), 而与结肠癌的TNM分期、分化程度、淋巴结转移呈正相关($P<0.05$)。TNM分期越晚、分化程度越低、淋巴结转移越多的患者KLK10的表达均强。结肠癌组织中HER2/neu的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、分化程度、远处转移均无相关性($P>0.05$)。而与结肠癌的TNM分期、淋巴结转移呈正相关($P<0.05$)。TNM分期越晚、淋巴结转移越多的患者HER-2/neu的表达均强(表2)。

2.3 结肠癌中KLK10和HER2/neu表达的相关性 在结肠癌组织中KLK10和HER2/neu的表达关系密切, 42例KLK10表达阳性结肠癌组中有28例HER2/neu表达阳性; 25例KLK10表达阴性结肠

表 2 *KLK10*及*HER-2/neu*的表达与临床病理参数的关系

参数	<i>n</i>	<i>KLK10</i>				<i>HER-2/neu</i>			
		-	+	阳性率(%)	<i>P</i> 值	-	+	阳性率(%)	<i>P</i> 值
性别					>0.05				>0.05
男	41	16	25	60.9		17	24	58.5	
女	26	9	17	65.4		12	14	53.8	
年龄(岁)					>0.05				>0.05
>60	44	17	27	61.4		16	28	63.6	
≤60	23	8	15	65.2		13	10	43.5	
病理分型					>0.05				>0.05
管状腺癌	57	23	34	59.6		25	32	56.1	
黏液腺癌	10	2	8	80		4	6	60.0	
肿瘤大小(cm)					>0.05				>0.05
>5	26	6	20	76.9		8	18	69.2	
≤5	41	19	22	53.7		21	20	48.8	
分化程度					<0.05				>0.05
高	7	6	1	14.3		5	2	28.6	
中	50	17	33	66.0		20	30	60.0	
低	10	2	8	80		4	6	60.0	
TNM分期					<0.05				<0.05
I	13	10	3	23.1		10	3	23.1	
II	25	10	15	60.0		13	12	48.0	
III	20	4	16	80.0		3	17	85.0	
IV	9	1	8	88.9		3	6	66.7	
淋巴结转移					<0.05				<0.05
有	25	4	21	84.0		3	22	88.0	
无	42	21	21	50.0		26	16	38.1	
远处转移					>0.05				>0.05
有	9	1	8	88.9		3	6	66.7	
无	58	24	34	58.6		26	32	55.2	

KLK10: 人组织激肽释放酶10; *HER-2*: 人类表皮生长因子受体2.

表 3 *KLK10*及*HER-2/neu*基因表达的相关性

<i>KLK10</i>	<i>n</i>	<i>HER2/neu</i>		等级相关系数(<i>r</i>)	<i>P</i> 值
		+	-		
+	42	28	14	0.260	<0.05
-	25	10	15		
合计	67	38	29		

KLK10: 人组织激肽释放酶10; *HER-2*: 人类表皮生长因子受体2.

癌组中有15例*HER2/neu*表达阴性; 经Spearman等级相关分析, 等级相关系数 $r = 0.260$, $P < 0.05$, *KLK10*和*HER2/neu*呈明显正相关(表3).

3 讨论

*KLK10*又名正常上皮细胞特异性-1基因(normal epithelial cell specific-1, *NES1*)定位于人类

■创新盘点

本研究探讨*KLK10*和*HER2/neu*在结肠癌组织中表达相关性, 认为他们可以通过激活基质金属蛋白酶从而降解细胞外基质, 两者可能在结肠癌发生发展中起协同作用, 可共同促进肿瘤的生长侵袭过程.

19q13.3染色体, 长约5.5 kb, 由6个外显子(其中一个未被翻译)和5个内含子组成. 编码一个分泌型丝氨酸蛋白酶(h*KLK10*), 包含276个氨基酸, 分子量约30 kDa. *KLK10*基因是一种分泌型丝氨酸蛋白酶, 具有胰岛素样的酶活性, 起调节上皮细胞生长分化的作用. *KLK10*广泛存在于组织细胞中尤其是腺上皮细胞如: 乳腺、前列腺、睾丸、卵巢、子宫内膜、胃肠道、支气管等, 无组织特异性^[3]. 研究发现*KLK10*基因除了在正常组织中高表达外, 还在一些恶性肿瘤组织中出现高表达或低表达, 尤其是一些内分泌肿瘤, 但致癌机制尚不明确. *KLK10*在肝癌、胃癌、乳腺癌、前列腺癌、睾丸癌、非小细胞肺癌等低表达^[4-8], 在卵巢癌、子宫浆液性乳头状癌、胰腺癌、口腔鳞状细胞癌中高表达^[9,10]. *KLK10*基因受雌二醇等类固醇激素的调

■应用要点

KLK10和HER-2/neu在结肠癌组织中的表达均升高,他们具有正相关性,在结肠癌的发生发展过程中起重要作用,因此认为他们共同促进结肠癌浸润转移,并可成为临床判定预后的良好指标,为肿瘤的进一步研究提供新的理论基础。

节,是内分泌相关肿瘤诊断与预后评价的标志物^[11]。近年来的研究发现KLK10基因在消化系统肿瘤中表达异常,尤其是在结直肠癌和胃癌中。Petraki等^[12]发现KLK10在结肠癌组织细胞中高表达,与分化程度、临床分期、肝转移密切相关, KLK10阳性表达患者的无瘤生存期和总生存期均低于KLK10阴性表达患者, KLK10是一个独立的结肠癌预后指标。本实验结果显示: 67例结肠癌组织中KLK10的阳性表达42例,阳性率62.7%; KLK10在结肠癌组织中表达率较正常结肠组织及结肠良性病变组织中高, TNM分期越晚、分化程度越低、淋巴结转移越多的患者KLK10的表达均强($P<0.05$)。KLK10的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、远处转移均无相关性($P>0.05$); 与Petraki等^[12]研究不同的是KLK10的表达与远处转移无相关性,这可能是本研究中的远处转移标本少的原因; 本研究结果提示KLK10的过表达可能是结肠癌发生发展的重要因素, KLK10可以作为结肠癌基因治疗的新靶点, 这与Maroulis等^[13]研究结果基本一致。

HER-2/neu基因是一种原癌基因,属于表皮生长因子受体家族中的一员。定位于17q11-21,编码的蛋白产物由1255个氨基酸组成,属I型跨膜受体酪氨酸激酶。正常组织中HER-2/neu基因处于非激活状态可调节细胞的增殖、分化,当受到体内外各种致癌因素激活后HER-2/neu基因的扩增和过度表达因而参与肿瘤转移形成等过程^[14]。HER-2/neu基因的扩增在许多恶性肿瘤中出现不同程度的表达,尤其是上皮源性的肿瘤,如乳腺癌、肺癌、卵巢癌、胃癌、结直肠癌等^[15]。本研究结果显示: 结肠癌组织中HER2/neu的阳性表达38例,阳性率56.7%,显著高于正常结肠组织及结肠良性病变组织。结肠癌组织中HER-2/neu的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、病理分型、远处转移、分化程度均无相关性($P>0.05$)。而HER-2/neu表达与结肠癌的TNM分期有相关性,分期越晚其表达率越高,结肠癌组织中的HER-2/neu表达与结肠癌淋巴结转移有相关性,有淋巴结转移的表达率高,差异有显著性意义($P<0.05$),提示HER-2/neu的过表达亦可能是结肠癌发生发展的重要因素,可作为临床预后判断指标。

KLK10在肿瘤侵袭转移过程中机制尚不明确,可能机制有诱导细胞外基质降解(如IV/XII胶原和层粘蛋白等)和促进肿瘤细胞增殖和血管的

形成(水解激活微环境中生长因子如转录生长因子- β 等)。Yousef等^[16]发现激肽释放酶、丝氨酸蛋白酶参与降解细胞外基质蛋白,包括胶原蛋白、层粘连蛋白、纤维蛋白原等。丝氨酸蛋白酶系统中尿激酶型纤溶酶原激活物和其受体,可通过激活基质金属蛋白酶参与细胞外基质降解,是肿瘤细胞外基质降解的经典模式。KLK10可通过激活此经典模式中的成员促进肿瘤转移。HER2/neu在肿瘤侵袭转移过程中的机制研究较为清晰。通过Ras/MAPK途径加速白明胶酶的增殖,从而降解基底膜的IV型胶原,使肿瘤细胞易于转移。本研究结果显示KLK10和HER2/neu在结肠癌组织中表达经Spearman等级相关分析,等级相关系数 $r = 0.260$, $P<0.05$,呈正相关性。由于KLK10和HER2/neu均可以通过激活基质金属蛋白酶从而降解细胞外基质,故推测两者可能在结肠癌发生发展中起协同作用,可共同促进肿瘤的生长侵袭过程。

总之, KLK10和HER-2/neu在结肠癌组织中的表达明显高于结肠良性肿瘤和正常结肠组织,且他们具有正相关性,他们在结肠癌的发生发展过程中起重要作用,因此认为他们共同促进结肠癌浸润转移,并可成为临床判定预后的良好指标, 本研究将为结肠癌的诊治进一步研究提供新的理论依据。

4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 El Sherbini MA, Sallam MM, Shaban EA, El-Shalakany AH. Diagnostic value of serum kallikrein-related peptidases 6 and 10 versus CA125 in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 625-632 [PMID: 21412167 DOI: 10.1097/IGC.0b013e31821283c3]
- 3 Petraki CD, Karavana VN, Luo LY, Diamandis EP. Human kallikrein 10 expression in normal tissues by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 1247-1261 [PMID: 12185203]
- 4 Huang W, Tian XL, Wu YL, Zhong J, Yu LF, Hu SP, Li B. Suppression of gastric cancer growth by baculovirus vector-mediated transfer of normal epithelial cell specific-1 gene. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5810-5815 [PMID: 18855978]
- 5 胡胜平, 李彪, 张一帆, 张敏. 乳腺癌裸鼠移植瘤NES1基因去甲基化治疗. *上海交通大学学报(医学版)* 2007; 27: 72-75
- 6 田相龙, 钟捷, 李彪, 黄玮, 张一帆, 王俊, 顾燕云. 5'-杂氮-2'-脱氧胞苷对人胃癌裸鼠移植瘤的抑瘤作用. *上海交通大学学报(医学版)* 2007; 27: 533-536
- 7 Lu CY, Hsieh SY, Lu YJ, Wu CS, Chen LC, Lo SJ, Wu CT, Chou MY, Huang TH, Chang YS. Aberrant DNA methylation profile and frequent methylation of KLK10 and OXGR1 genes in hepatocellular carcinoma.

- noma. *Genes Chromosomes Cancer* 2009; 48: 1057-1068 [PMID: 19760608 DOI: 10.1002/gcc.20708]
- 8 曹虹, 饶雪峰, 邹霞, 廖传文, 陈晓亮. NES1基因在肝细胞肝癌中的表达及临床意义. *江西医药杂志* 2012; 47: 298-300
- 9 Shvartsman HS, Lu KH, Lee J, Lillie J, Deavers MT, Clifford S, Wolf JK, Mills GB, Bast RC, Gershenson DM, Schmandt R. Overexpression of kallikrein 10 in epithelial ovarian carcinomas. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 44-50 [PMID: 12821340]
- 10 Zhang Y, Song H, Miao Y, Wang R, Chen L. Frequent transcriptional inactivation of Kallikrein 10 gene by CpG island hypermethylation in non-small cell lung cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 934-940 [PMID: 20180809 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01486.x]
- 11 Yousef GM, Yacoub GM, Polymeris ME, Popalis C, Soosaipillai A, Diamandis EP. Kallikrein gene downregulation in breast cancer. *Br J Cancer* 2004; 90: 167-172 [PMID: 14710225]
- 12 Petraki C, Youssef YM, Dubinski W, Lichner Z, Scorilas A, Pasic MD, Komborozos V, Khalil B, Streutker C, Diamandis EP, Yousef GM. Evaluation and prognostic significance of human tissue kallikrein-related peptidase 10 (KLK10) in colorectal cancer. *Tumour Biol* 2012; 33: 1209-1214 [PMID: 22437349 DOI: 10.1007/s13277-012-0368-5]
- 13 Talieri M, Alexopoulou DK, Scorilas A, Kypraios D, Arnogiannaki N, Devetzi M, Patsavela M, Xynopoulos D. Expression analysis and clinical evaluation of kallikrein-related peptidase 10 (KLK10) in colorectal cancer. *Tumour Biol* 2011; 32: 737-744 [PMID: 21487810 DOI: 10.1007/s13277-011-0175-4]
- 14 罗荣城, 韩焕兴. 肿瘤生物治疗学. 北京: 北京人民出版社, 2006: 857-859
- 15 张恒明, 孙振柱, 孔艳青, 王玉环. TEN, Her-2和Glut-1在子宫内膜上皮类瘤变和癌中的表达及意义. *新疆医科大学学报* 2011; 34: 142-146
- 16 Yousef GM, Diamandis EP. The human kallikrein gene family: new biomarkers for ovarian cancer. *Cancer Treat Res* 2009; 149: 165-187 [PMID: 19763436 DOI: 10.1007/978-0-387-98094-2_8]

■同行评价

本文设计合理, 结果可信, 对结肠癌的研究及临床实践有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

内镜下支架置入联合新辅助化疗治疗结直肠癌恶性梗阻

吴洁, 荣大庆, 柳青峰, 耿宣, 张志强, 董齐, 王燕庆

■背景资料

急性肠梗阻中85%的低位梗阻是由结直肠癌引起, 对于恶性肠梗阻传统常需急诊手术治疗, 由于患者常伴有脱水、电解质紊乱、肠黏膜损伤、腹腔高压, 因此急诊手术风险巨大, 死亡率高达12%, 实施永久的结肠造口术患者也高达40%。

吴洁, 荣大庆, 柳青峰, 耿宣, 张志强, 董齐, 王燕庆, 辽宁省人民医院普外一科 辽宁省沈阳市 110016

吴洁, 副主任医师, 主要从事结直肠癌的研究。

沈阳市科技计划基金资助项目, No. F12-193-9-25

作者贡献分布: 此课题由吴洁、张志强及柳青峰设计; 手术实施和资料采集分析由吴洁、张志强、耿宣、荣大庆及王燕庆操作完成; 论文写作由吴洁、柳青峰及董齐完成。

通讯作者: 柳青峰, 主任医师, 110016, 辽宁省沈阳市沈河区文艺路33号, 辽宁省人民医院普外科。Insrmyy@sina.com
电话: 024-24016710

收稿日期: 2013-08-29 修回日期: 2013-09-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-18

Endoscopic stenting combined with neoadjuvant chemotherapy for treatment of malignant colorectal obstruction

Jie Wu, Da-Qing Rong, Qing-Feng Liu, Xuan Geng, Zhi-Qiang Zhang, Qi Dong, Yan-Qing Wang

Jie Wu, Da-Qing Rong, Qing-Feng Liu, Xuan Geng, Zhi-Qiang Zhang, Qi Dong, Yan-Qing Wang, Department of General Surgery, People's Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110016, Liaoning Province, China
Supported by: the Science and Technology Project of Shenyang City, No. F12-193-9-25

Correspondence to: Qing-Feng Liu, Chief Physician, Department of General Surgery, People's Hospital of Liaoning Province, 33 Wenyi Road, Shenhe District, Shenyang 110016, Liaoning Province, China. Insrmyy@sina.com
Received: 2013-08-29 Revised: 2013-09-24
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical effect of endoscopic stenting combined with neoadjuvant chemotherapy in the treatment of malignant colorectal obstruction.

METHODS: A retrospective analysis of 75 malignant colorectal obstruction patients who were treated at Liaoning Provincial People's Hospital between 2003 and 2008 was performed. The patients were divided into three groups, a control group ($n = 30$) treated using traditional methods, a stent placement group ($n = 30$) treated using self-expanding metal stents, and a stent placement plus chemotherapy group ($n = 15$) treated using self-expanding metal stents in combina-

tion with neoadjuvant chemotherapy.

RESULTS: The percentage of surgical patients undergoing colostomy was significantly higher in the control group than in the stent placement group and the stent placement plus chemotherapy group (62.5% vs 30.0%, 25.0%, $\chi^2 = 4.619, 4.500$, both $P < 0.05$). The tumor resection rate was significantly lower in the control group than in the stent placement group and the stent placement plus chemotherapy group (37.5% vs 70.0%, 75.0%, $\chi^2 = 4.619, 4.500$, both $P < 0.05$). The radical surgery rate was significantly higher in the stent placement plus chemotherapy than in the control group (41.7% vs 12.5%, $\chi^2 = 3.938$, $P < 0.05$), but showed no significant difference between the control group and stent placement group ($\chi^2 = 0.059$, $P > 0.05$). The five-year survival rate was significantly higher in the stent placement plus chemotherapy group than in the control group (26.7% vs 3.3%, $\chi^2 = 5.513$, $P < 0.05$), but showed no significant difference between the control group and stent placement group ($\chi^2 = 1.071$, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Endoscopic stenting combined with neoadjuvant chemotherapy can effectively improve tumor resection rate and radical surgery rate and prolong survival time in patients with advanced colorectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic Stenting; Neoadjuvant chemotherapy; Malignant colorectal obstruction

Wu J, Rong DQ, Liu QF, Geng X, Zhang ZQ, Dong Q, Wang YQ. Endoscopic stenting combined with neoadjuvant chemotherapy for treatment of malignant colorectal obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4056-4059 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4056.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4056>

摘要

目的: 探讨内镜下支架置入联合新辅助化疗治疗结直肠癌恶性梗阻的临床效果。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

方法: 回顾分析辽宁省人民医院普外科2003-2008年收治的结直肠癌恶性肠梗阻患者75例, 按治疗方案将患者分为对照组($n = 30$), 采用传统方法治疗; 支架组($n = 30$), 采用自膨式金属支架治疗; 支架化疗组($n = 15$)采用自膨式金属支架联合新辅助化疗治疗。

结果: 在手术治疗的患者中, 对照组实施结肠造瘘率高达62.5%, 明显高于支架组30.0%($\chi^2 = 4.619, P < 0.05$)及支架化疗组25.0%($\chi^2 = 4.500, P < 0.05$); 对照组肿瘤切除率达37.5%, 明显低于支架组70.0%($\chi^2 = 4.619, P < 0.05$)及支架化疗组75.0%($\chi^2 = 4.500, P < 0.05$); 其中实施根治性手术的患者中, 支架化疗组高达41.7%, 明显高于对照组12.5%($\chi^2 = 3.938, P < 0.05$), 对照组与支架组根治手术切除率比较无统计学意义($\chi^2 = 0.059, P > 0.05$); 支架化疗组5年生存率达26.7%, 明显高于对照组3.3%($\chi^2 = 5.513, P < 0.05$), 对照组与支架组比较无统计学意义($\chi^2 = 1.071, P > 0.05$)。

结论: 内镜下金属支架置入联合新辅助化疗可以有效地提高晚期结直肠癌的手术切除率、根治率, 延长生存时间, 值得临床推广。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 支架置入; 新辅助化疗; 恶性肠梗阻

核心提示: 支架置入为恶性肠梗阻患者争取了宝贵治疗筹备时间, 而新辅助化疗则使部分不可切除肿瘤变为可切除肿瘤, 明显提高了肿瘤切除率及根治率、降低了肠造瘘率, 5年生存率显著提高, 为结直肠癌恶性肠梗阻患者提供了新的治疗途径。

吴洁, 荣大庆, 柳青峰, 耿宣, 张志强, 董齐, 王燕庆. 内镜下支架置入联合新辅助化疗治疗结直肠癌恶性梗阻. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4056-4059 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4056.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4056>

0 引言

急性肠梗阻(acute ileus)是外科常见的急腹症, 85%的低位梗阻是由结直肠癌(colorectal cancer)引起, 而15%-20%的结直肠癌患者是在治疗肠梗阻的过程中发现的。对于恶性肠梗阻(malignant intestinal obstruction)传统常需急诊手术治疗, 由于患者常伴有脱水、电解质紊乱、肠黏膜损伤、腹腔高压, 因此急诊手术风险巨大, 死亡率高达12%(择期手术死亡率约3.5%), 实施永

久的结肠造口术患者也高达40%^[1,2]。

1991年Tirosh等^[3]和Cirocchi等^[4]首先报道了使用金属支架作为直肠癌的姑息治疗手段并获得满意的疗效。支架置入操作简便, 患者耐受性好, 肠梗阻症状能够迅速改善, 且能有效地提高肠吻合率、降低吻合口瘘发生率。随着内镜的发展, 支架置入成为了治疗恶性肠梗阻的重要手段。

然而支架介入只是一种姑息治疗方法, 并不能提高手术切除率、降低肝转移发生率, 也不能延长患者生存时间^[5]。我院通过内镜下支架置入联合新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy)治疗结直肠癌恶性梗阻取得了良好的疗效, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾分析辽宁省人民医院普外科2003-2008年收治的结直肠癌恶性肠梗阻患者75例, 按治疗方案将患者分为对照组、支架组、支架化疗组。病例选择标准: 有腹痛、腹胀等肠梗阻症状, 肠镜活检病理诊断为结直肠癌, 临床分型在IIIB以上。排除标准: 患者病情严重不能耐受结肠镜检查者, 包括严重心脑血管疾患、急腹症、生命体征不平稳等; 神志异常不能配合检查者, 有结肠镜禁忌症者。

电子内镜: 富士400电子十二指肠镜系统, 德国西门子公司医用X射线系统, 美国bostorn公司生产的镍钛金属肠道支架、黄斑马导丝。

1.2 方法 对照组($n = 30$): 男20例, 女10例。年龄46-78岁, 65.2 ± 8.6 岁, 所有患者入院后给予胃肠减压, 灌肠导泻等非手术治疗, 如肠道通畅, 则按病情择期手术或行化疗、支持治疗; 如肠梗阻无缓解则急诊手术行开腹肿瘤切除或肠造瘘术。支架组($n = 30$): 男16例, 女14例。年龄54-80岁, 68.5 ± 10.2 岁, 所有患者入院确诊后均行结肠镜下内支架置入术: 结肠镜到达病变部位后, 在X线引导下将导丝放置到狭窄近端, 注入造影剂观察狭窄程度及长度, 选择支架, 在内镜直视和X线引导下将自膨式金属支架(self expanding metallic stent, SEMS)释放于狭窄部位, 两端超过病变部位2 cm左右。支架置入后如肠道通畅, 则按病情择期手术或行化疗、支持治疗; 如肠梗阻无缓解则急诊手术行开腹肿瘤切除或肠造瘘术。支架化疗组($n = 15$): 男9例, 女6例。年龄52-74岁, 67.8 ± 12.5 岁, 所有患者入院确诊后均行结肠镜下内支架置入术(方法同上);

■ 研发前沿

近年来研究较多的肝细胞材料为猪肝细胞和肿瘤源性肝细胞株(C3A、HepG2等), 但动物肝细胞存在发生免疫反应及传播动物源性病毒的危险, 肿瘤源性肝细胞株分化程度低、生物学功能低下且在临床应用中存在细胞逃逸进入患者体内引起肿瘤的危险, 限制了临床的广泛应用。

■ 相关报道

NCCN指南2011版指出,转移性结直肠癌确诊时大多数属于不可切除。然而,对那些转移瘤仅局限于肝脏并且累及重要结构而不可切除患者,越来越倾向于考虑尝试使用术前化疗来缩小转移瘤体积以便尝试将其转化为可切除。

表 1 3组患者治疗方式及生存率分析 n(%)

分组	n	平均年龄(岁)	未手术	手术	手术治疗方式			5年生存例数
					结肠造瘘	局部切除	根治切除	
对照组	30	65.2 ± 8.6	6(20.0)	24(80.0)	15(62.5)	6(25.0)	3(12.5)	1(3.3)
支架组	30	68.5 ± 10.2	10(33.3)	20(66.7)	6(30.0)	11(55.0)	3(15)	3(10.0)
支架化疗组	15	67.8 ± 12.5	3(20.0)	12(80.0)	3(25.0)	4(33.3)	5(41.7)	4(26.7)

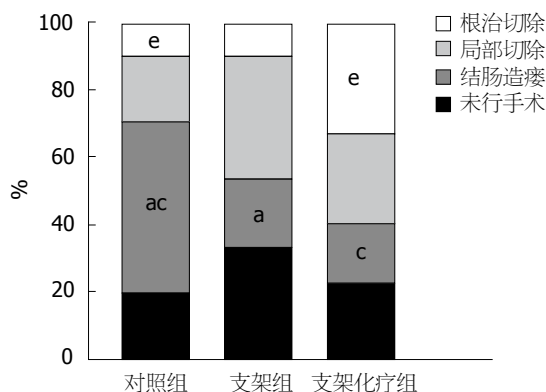


图 1 3组患者治疗方式分析柱状图. $\chi^2 = 4.619$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 4.500$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 3.938$, $P < 0.05$ vs 对照组.

如肠梗阻无缓解则急诊手术行开腹肿瘤切除或肠造瘘术;如支架置入肠梗阻症状缓解,给予mFOLFOX6方案新辅助化疗. mFOLFOX6方案:奥沙利铂85 mg/m²静脉滴注2 h,第1天;LV400 mg/m²静脉滴注2 h,第1天;5-FU mg/m²静脉推注,第1天,然后1200 mg/(m²·d)×2 d持续静脉滴注(总量2400 mg/m²,滴注46-48 h)每2 wk重复.新辅助化疗患者每月综合评估,如不可切除肿瘤变为可切除肿瘤,则择期行开腹手术切除肿瘤及转移灶^[6-8].

统计学处理 所有数据均以mean±SD表示,采用 χ^2 检验分析方法,经SPSS13.0统计分析软件对数据进行处理. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

恶性肠梗阻患者由于肿瘤的不断进展,通过非手术治疗使肠道再通畅的几率较低,常需手术治疗;本实验对照组20%患者行非手术治疗,80%急诊行手术治疗(表1).

在手术治疗的患者中,对照组实施结肠造瘘率高达62.5%,明显高于支架组30.0%($\chi^2 = 4.619$, $P < 0.05$)及支架化疗组25.0%($\chi^2 = 4.500$, $P < 0.05$);对照组肿瘤切除率达37.5%,明显低于支架组70.0%($\chi^2 = 4.619$, $P < 0.05$)及支架化疗组75.0%($\chi^2 = 4.500$, $P < 0.05$);其中实施根治性手术

的患者中,支架化疗组高达41.7%,明显高于对照组12.5%($\chi^2 = 3.938$, $P < 0.05$),对照组与支架组根治手术切除率比较无统计学意义($\chi^2 = 0.059$, $P > 0.05$);支架化疗组5年生存率达26.7%,明显高于对照组3.3%($\chi^2 = 5.513$, $P < 0.05$),对照组与支架组比较无统计学意义($\chi^2 = 1.071$, $P > 0.05$), (表1,图1).

3 讨论

15%-20%的结直肠癌患者会发生恶性肠梗阻,且当患者于急诊就诊时往往身体状况较差,有研究表明,梗阻是一个重要的、独立的不良预后因素,可导致急诊手术的切除率低,肠造口率高,死亡率则高达12%.目前利用SEMS替代恶性肠梗阻急诊手术正在被广泛接受,并逐渐成为第一线的姑息性治疗方案.这种无开腹创伤、低操作风险的方法能有效地缓解梗阻症状,为那些有潜在可治愈的患者提供了术前充分评估、准备、支持的时间^[9,10].

支架置入对恶性肠梗阻的早期治疗效果是毋庸置疑的,但对其是否会损害危重患者的免疫系统、增加并发症的风险、增加可治愈肿瘤扩散的危险性等方面还存在争议;且支架置入虽降低了肠造口率、吻合口瘘发生率、改善了生存质量,但其对于肿瘤的切除率、肝转移发生率、患者的生存时间并没有显著的改善^[11],本实验也证实,对照组与支架组比较,手术根治率及5年生存率无统计学意义($P > 0.05$).

发生恶性肠梗阻的结直肠癌患者绝大部分都是肿瘤晚期,局部浸润及肝转移发生率较高,而手术切除肿瘤是延长患者生存时间最有效的办法,行根治性手术的患者5年生存率为25%-40%,未行手术切除或不可切除的患者5年生存率仅为2%-8%,但适合手术切除的患者仅占10%-20%.近年来国际上开始出现并提倡新辅助化疗来降低肿瘤的临床分期,使一些不能切除的病症变为可能,有研究表明新辅助化疗可使晚期结直肠癌切除率提高到30%^[12,13].

NCCN指南2011版指出, 转移性结直肠癌确诊时大多数属于不可切除。然而, 对那些转移瘤仅局限于肝脏并且累及重要结构而不可切除患者, 越来越倾向于考虑尝试使用术前化疗来缩小转移瘤体积以便尝试将其转化为可切除。

术前化疗相对于术后化疗的潜在优点还包括: 及早治疗微小转移灶; 判断肿瘤对化疗的反应, 有助于制定术后治疗计划; 对那些早期进展的患者可以避免局部治疗。

我们对结直肠癌恶性肠梗阻的患者, 置入支架后给予FOLFOX方案新辅助化疗, 取得了良好的临床效果。支架组及支架化疗组实施结肠造瘘率明显低于对照组、肿瘤切除率明显高于对照组; 支架化疗组实施根治性手术的患者达41.7%明显高于对照组($P<0.05$)、5年生存率达26.7%, 也明显高于对照组($P<0.05$)。

支架置入为恶性肠梗阻患者争取了宝贵治疗筹备时间, 而新辅助化疗则使部分不可切除肿瘤变为可切除肿瘤, 提高了患者的生存率。随着结直肠癌发病率逐步提高, 新的治疗方法不断出现, 支架置入联合新辅助化疗为结直肠癌恶性肠梗阻患者提供了新的治疗途径, 而治疗前评估, 如何减轻化疗不良反应及新辅助化疗后的手术时间上还需要进一步的研究^[14,15]。

4 参考文献

- 1 Jiménez-Pérez J, Casellas J, García-Cano J, Vandervoort J, García-Escribano OR, Barcenilla J, Delgado AA, Goldberg P, Gonzalez-Huix F, Vázquez-Astray E, Meisner S. Colonic stenting as a bridge to surgery in malignant large-bowel obstruction: a report from two large multinational registries. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2174-2180 [PMID: 22085816 DOI: 10.1038/ajg.2011.360]
- 2 Bonfante P, D'Ambra L, Berti S, Falco E, Cristoni MV, Briglia R. Managing acute colorectal obstruction by "bridge stenting" to laparoscopic surgery: Our experience. *World J Gastrointest Surg* 2012; 4: 289-295 [PMID: 23493809 DOI: 10.4240/wjgs.v4.i12.289]
- 3 Tirosh D, Perry Z, Walfisch S, Rozental A, Fich A, Krugliak P, Mizrahi S, Kirshtein B. Endoscopic self-expanding metal stents for acute colonic obstruction. *Am Surg* 2013; 79: 30-34 [PMID: 23317598]
- 4 Cirocchi R, Farinella E, Trastulli S, Desiderio J, Listorti C, Boselli C, Parisi A, Noya G, Sagar J. Safety and efficacy of endoscopic colonic stenting as a bridge to surgery in the management of intestinal obstruction due to left colon and rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Surg Oncol* 2013; 22: 14-21 [PMID: 23183301 DOI: 10.1016/j.suronc.2012.10.003]
- 5 Ho KS, Quah HM, Lim JF, Tang CL, Eu KW. Endoscopic stenting and elective surgery versus emergency surgery for left-sided malignant colonic obstruction: a prospective randomized trial. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 355-362 [PMID: 22033810 DOI: 10.1007/s00384-011-1331-4]
- 6 Shao YC, Chang YY, Lin JK, Lin CC, Wang HS, Yang SH, Jiang JK, Lan YT, Lin TC, Li AF, Chen WS, Chang SC. Neoadjuvant chemotherapy can improve outcome of colorectal cancer patients with unresectable metastasis. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1359-1365 [PMID: 23695387 DOI: 10.1007/s00384-013-1713-x]
- 7 Yao HW, Xiu DR, Fu W, Yuan J, Jiang B, Wang DC, Ma CL, Yuan CH, Sun T, Ma LW, Cao BS, Liu JY, Chen M, Chen W, Tan S, Huang YH, Zhang L, Shi XY. [A clinical study on multi-disciplinary team and surgery for resectable colorectal cancer with liver metastases]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2012; 50: 961-965 [PMID: 23302476]
- 8 Fontana E, Pucci F, Camisa R, Bui S, Galdy S, Leonardi F, Negri FV, Anselmi E, Losardo PL, Roncoroni L, Dell'abate P, Crafa P, Cascinu S, Ardizzone A. Long-term results of preoperative 5-fluorouracil-oxaliplatin chemoradiation therapy in locally advanced rectal cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 725-730 [PMID: 23393374]
- 9 Fiori E, Lamazza A, Schillaci A, Femia S, Demasi E, Decesare A, Sterpetti AV. Palliative management for patients with subacute obstruction and stage IV unresectable rectosigmoid cancer: colostomy versus endoscopic stenting: final results of a prospective randomized trial. *Am J Surg* 2012; 204: 321-326 [PMID: 22575396 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.11.013]
- 10 Angenete E, Asplund D, Bergström M, Park PO. Stenting for colorectal cancer obstruction compared to surgery—a study of consecutive patients in a single institution. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 665-670 [PMID: 22124678 DOI: 10.1007/s00384-011-1374-6]
- 11 Cirocchi R, Farinella E, Trastulli S, Desiderio J, Listorti C, Boselli C, Parisi A, Noya G, Sagar J. Safety and efficacy of endoscopic colonic stenting as a bridge to surgery in the management of intestinal obstruction due to left colon and rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Surg Oncol* 2013; 22: 14-21 [PMID: 23183301 DOI: 10.1016/j.suronc.2012.10.003]
- 12 张贵阳, 金国祥. 结直肠癌肝转移的治疗体会. *中华胃肠外科杂志* 2007; 10: 52-53
- 13 Ayez N, Burger JW, van der Pool AE, Eggermont AM, Grunhagen DJ, de Wilt JH, Verhoef C. Long-term results of the "liver first" approach in patients with locally advanced rectal cancer and synchronous liver metastases. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 281-287 [PMID: 23392140 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318279b743]
- 14 Hermanek P, Merkel S, Hohenberger W. Prognosis of rectal carcinoma after multimodal treatment: ypTNM classification and tumor regression grading are essential. *Anticancer Res* 2013; 33: 559-566 [PMID: 23393349]
- 15 Lu QY, Zhao AL, Deng W, Li ZW, Shen L. Hepatic histopathology and postoperative outcome after preoperative chemotherapy for Chinese patients with colorectal liver metastases. *World J Gastrointest Surg* 2013; 5: 30-36 [PMID: 23556058 DOI: 10.4240/wjgs.v5.i3.30]

■同行评价

本文目标基本明确, 设计合理, 实验数据可靠, 具有一定的创新性, 研究有一定的科学意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的Meta分析

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹

■背景资料

小肠出血的诊治一直都是临床上的难点。近年来, 随着双气囊小肠镜和胶囊内镜的开展与普及, 不明原因消化系出血的检出率有了很大的提高。胶囊内镜与双气囊小肠镜有各自的优缺点, 近年来众多学者对这两种方案诊断不明原因消化系出血方面进行了深入的研究, 但报道结果并不一致。

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹, 天津市第五中心医院消化科 天津市 300450

王柏清, 硕士, 主要从事小肠疾病诊治方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由王柏清与孙光斌设计; 研究过程由王柏清、娄文辉、南寿山及张宝芹完成; 数据分析由王柏清完成; 本文撰写由王柏清完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市塘沽区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化科, sun19660901@sina.com

电话: 022-65665412

收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-10-16

接受日期: 2013-10-30 在线出版日期: 2013-12-18

Double balloon enteroscopy vs capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding: A Meta-analysis

Bai-Qing Wang, Guang-Bin Sun, Wen-Hui Lou, Shou-Shan Nan, Bao-Qin Zhang

Bai-Qing Wang, Guang-Bin Sun, Wen-Hui Lou, Shou-Shan Nan, Bao-Qin Zhang, the Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Correspondence to: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, 41 Zhejiang Street, Tanggu District, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2013-09-02 Revised: 2013-10-16

Accepted: 2013-10-30 Published online: 2013-12-18

Abstract

AIM: To compare the diagnostic value of double balloon enteroscopy versus capsule endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding to help choose the optimal diagnostic strategy for this clinical condition.

METHODS: A comprehensive literature search was performed in PubMed, Medline, Vip database, Wanfang database, China National Knowledge Infrastructure database (CNKI) and Chinese Biomedical Literature database (CBM) of randomized controlled clinical trial using double balloon enteroscopy and capsule endoscopy for the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding dating from January 2003 to January 2013. Data of included studies were extracted and their quality evaluated independently by two re-

viewers. RevMan5 software was used for Meta-analysis.

RESULTS: Based on inclusion criteria, 13 prospective randomized controlled clinical studies were included in this study. Meta-analysis showed no significant difference in the diagnostic rate between double balloon enteroscopy and capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding. Subgroup analysis showed that the diagnostic rate had no significant difference between enteroscopy in patients with positive results in previous capsule endoscopy and enteroscopy in unselected patients.

CONCLUSION: Double balloon enteroscopy and capsule endoscopy have similar diagnostic results in patients with obscure gastrointestinal bleeding, and enteroscopy after capsule endoscopy can not improve the diagnostic rate.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Capsule endoscopy; Double balloon enteroscopy; Meta-analysis; Obscure gastrointestinal bleeding; Intestinal bleeding

Wang BQ, Sun GB, Lou WH, Nan SS, Zhang BQ. Double balloon enteroscopy vs capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(35): 4060-4065 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4060>

摘要

目的: 比较胶囊内镜与双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值, 用以评估不明原因消化系出血患者的最优检查方案。

方法: 通过PubMed、Medline、维普、万方、中国知网、中国生物医学文献数据库检索2003-01/2013-01期间发表的同时使用胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的前瞻性随机对照临床试验的文章。由2名评

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

价员独立对纳入文献进行质量评价和数据提取, 并使用RevMan5软件进行Meta分析。

结果: 按照入选标准, 有13项前瞻性随机对照临床试验纳入。Meta分析结果显示: 胶囊内镜和双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断率没有显著差别($OR = 1.19, 95\%CI: 0.74-1.91, P = 0.48$)。亚组分析表明胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的诊断率比较没有显著差异($OR = 1.50, 95\%CI: 0.90-2.48, P = 0.12$)。

结论: 胶囊内镜和双气囊小肠镜在不明原因消化系出血的患者中具有相似的诊断率, 胶囊内镜阳性后再进行小肠镜检查并不能提高诊断率。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胶囊内镜; 双气囊小肠镜; Meta分析; 不明原因消化系出血; 小肠出血

核心提示: 胶囊内镜和双气囊小肠镜在不明原因消化系出血的患者中具有相似的诊断率, 胶囊内镜阳性后再进行小肠镜检查并不能提高诊断率。

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹. 胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4060-4065 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i35.4060>

0 引言

消化系出血约2%-10%的慢性出血病灶位于小肠。近年来, 随着双气囊小肠镜和胶囊内镜的开展与普及, 不明原因消化系出血的检出率有了很大的提高^[1]。胶囊内镜与双气囊小肠镜各有各的优缺点^[2-4], 近年来众多学者对这两种方案诊断不明原因消化系出血方面进行了深入的研究, 但报道结果并不一致。本文通过对近年来有关胶囊内镜与双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断的文献进行Meta分析, 比较两种方法对不明原因消化系出血的诊断价值, 用以评估不明原因消化系出血患者的最优检测方案。

1 材料和方法

1.1 材料 查阅2003-01/2013-01期间发表的有关胶囊内镜与双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血的文献。包括检索PubMed, 检索词为: wireless capsule endoscopy或capsule endoscopy

或video capsule endoscopy和double balloon endoscopy或double balloon enteroscopy或push-and-pull endoscopy; 检索维普数据库、中国知网数据库、万方数据库, 以“胶囊内镜、小肠镜、出血”为检索词。查阅所有检出论文的参考文献作为补充。共有来自13篇随机对照临床试验纳入本研究。其中12篇通过检索PubMed所获, 1篇为维普数据库、中国知网数据库和万方数据库所收录。

1.2 方法

1.2.1 入选标准: 收入文献均满足: (1)为前瞻性随机对照临床资料; (2)入选病例均经胃镜、结肠镜等检查除外上消化系出血及大肠出血; (3)为胶囊内镜与双气囊小肠镜对不明原因消化系出血诊断率的比较; (4)入选的病例均为同一患者先后同时经历胶囊内镜和双气囊小肠镜检查, 以保证在相同条件下对两种检查方法进行比较。

1.2.2 数据提取和质量评价: 有2名研究者对入选文献按照入选标准进行独立筛选, 文献质量评价按照Jadad评分^[5]。如有分歧, 协商讨论解决, 必要时征求第三方处理不一致结果。

统计学处理 数据采用Cochrane协作网提供的RevMan5进行Meta分析。Meta分析前, 采用 χ^2 检验进行异质性检验。若 $P > 0.1$ 时, 表明无明显异质性, 用固定效应模型合并效应量; $P < 0.1$, 表明各研究间异质性明显, 用随机效应模型合并效应量。疗效分析的统计量采用比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)。由于我们所纳入的文献均为已发表的文献, 可能存在发表偏倚, 因此我们采用失安全数及漏斗图来分析偏倚情况。失安全数 $Nfs0.05 = (\sum Z/1.645)^2 - k$ ($\sum Z$ 为各独立研究的Z值之和, k 为纳入研究个数), 即在 $P = 0.05$ 水平, 至少需多少篇阴性结果的研究才能使本研究结果发生逆转, 值越大说明发表偏倚的影响越小^[6-8]。

2 结果

按照入选标准, 共检索到相关文献13篇, 其中8篇文献Jadad评分 ≥ 3 分, 属于高质量文章, 文献特征如表1。

2.1 胶囊内镜和小肠镜诊断率的比较 Meta分析发现比较胶囊内镜和双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断率没有显著差别($OR = 1.19, 95\%CI: 0.74-1.91, P = 0.48$)(图1)。

2.2 胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的诊断率的比较 亚组分析表明胶

■ 研发前沿

胶囊内镜和双气囊小肠镜诊断不明原因消化系出血有各自的优缺点。近年来众多学者对这两种方案诊断不明原因消化系出血方面进行了深入的研究, 但报道结果并不一致。

■相关报道

胶囊内镜和双气囊小肠镜在诊断不明原因的消化道出血中,哪一种是最好的起始检测方法,目前仍有争议。戈之铮等认为,胶囊内镜对不明原因消化道出血具有较高的检出率和诊断率,且明显优于推进式小肠镜;Christopher等研究则提示,胶囊内镜和双气囊小肠镜在不明原因消化道出血中的诊断率相似,胶囊内镜阳性后再进行小肠镜检查可以提高诊断率。

表 1 纳入文献的基本特征

研究者	n	平均年龄(岁)	男/女	阳性例数(胶囊内镜/小肠镜)	CE阳性情况下DBE检查诊断率n(%)	CE阴性情况下DBE检查诊断率n(%)
Matsumoto等 ^[9]	13	45	7/6	10/6	—	—
Hadithi等 ^[10]	35	63.2	22/13	28/21	20/28(71.4)	1/7(14.3)
Mehdizadeh等 ^[11]	115	—	—	63/57	41/63(65.1)	16/52(30.8)
Nakamura等 ^[12]	28	58.5	19/9	17/12	9/17(52.9)	3/11(27.3)
Fujimori等 ^[13]	45/36	60.2 ± 15	25/20	18/18	16/18(88.9)	2/20(10)
Ohmiya等 ^[14]	74	56	46/28	37/39	—	—
Kameda等 ^[15]	32	62.4 ± 14.8	13/19	23/21	15/23 (65.2)	2/3(66.7)
Arakawa等 ^[16]	74	—	—	40/47	36/40 (90)	11/34(33)
Fukumoto等 ^[17]	42	—	—	16/18	—	—
Shishido等 ^[18]	54	62.9 ± 18	70/48	25/28	22/25(88)	6/29(20.7)
Kamalaporn等 ^[19]	51	64.1	26/25	42/44	26/33(78.8)	8/44(18.2)
钟捷等 ^[20]	24	39.4	16/8	11/21	7/11(63.6)	3/13(23)
Marmo等 ^[21]	193	61.6 ± 16	119/74	175/132	124/174(71)	8/19 (42.1)

¹Fujimori等研究中45例患者进行了胶囊内镜检查,但只有36例患者进行了小肠镜检查;—: 研究资料未提供该数据。

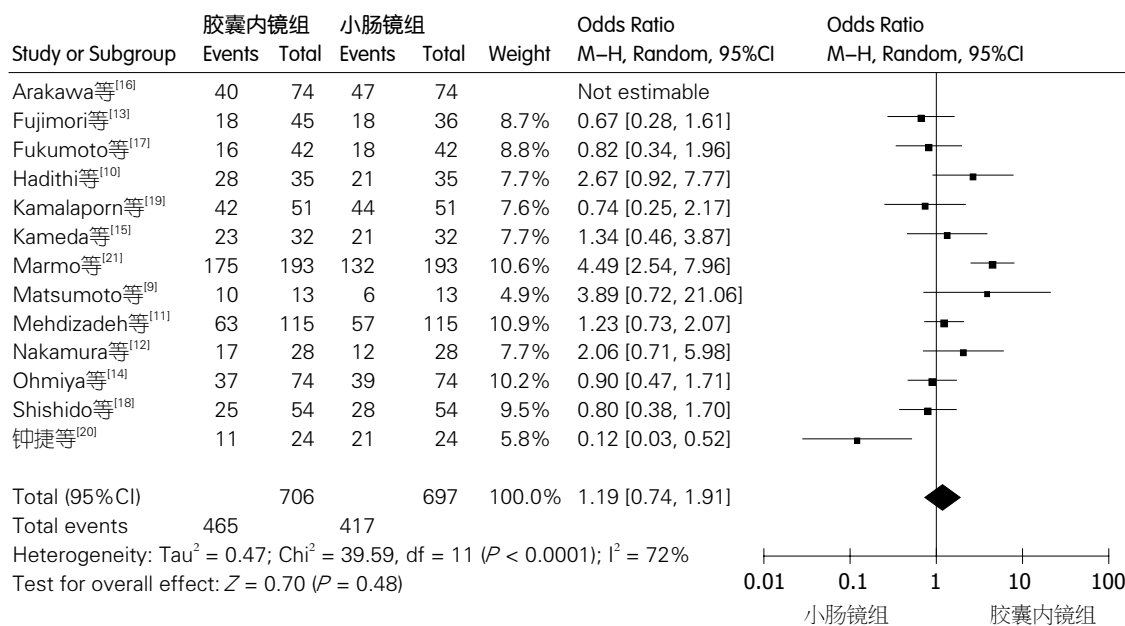


图 1 胶囊内镜和双气囊小肠镜对不明原因消化道出血诊断率的Meta分析结果。

囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的检出率比较没有明显差异($OR = 1.50$, $95\%CI: 0.90-2.48$, $P = 0.12$)(图2)。

2.3 偏倚分析 由于所纳入的文献均为已发表的文献,可能存在发表偏倚,因此采用失安全系数及漏斗图来分析偏倚情况。胶囊内镜和小肠镜对不明原因消化道出血诊断率比较的Meta分析,失安全系数为99,远高于纳入的文献数,漏斗图显示两侧基本对称,无明显发表偏倚(图3)。胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的诊断率比较的Meta分析,失安全系数为

51, 远高于纳入的文献数,漏斗图显示两侧基本对称,无明显发表偏倚(图4)。因此本研究的结论具有一定的可靠性。

3 讨论

小肠出血的诊治一直都是临床上的难点,随着胶囊内镜和双气囊小肠镜的应用,不明原因消化道出血的诊断率有了明显提高^[22,23]。胶囊内镜和双气囊小肠镜诊断不明原因消化道出血有各自的优缺点:胶囊内镜作为一种非侵袭性的检查,可以覆盖整个胃肠道,无创伤、无导线、无

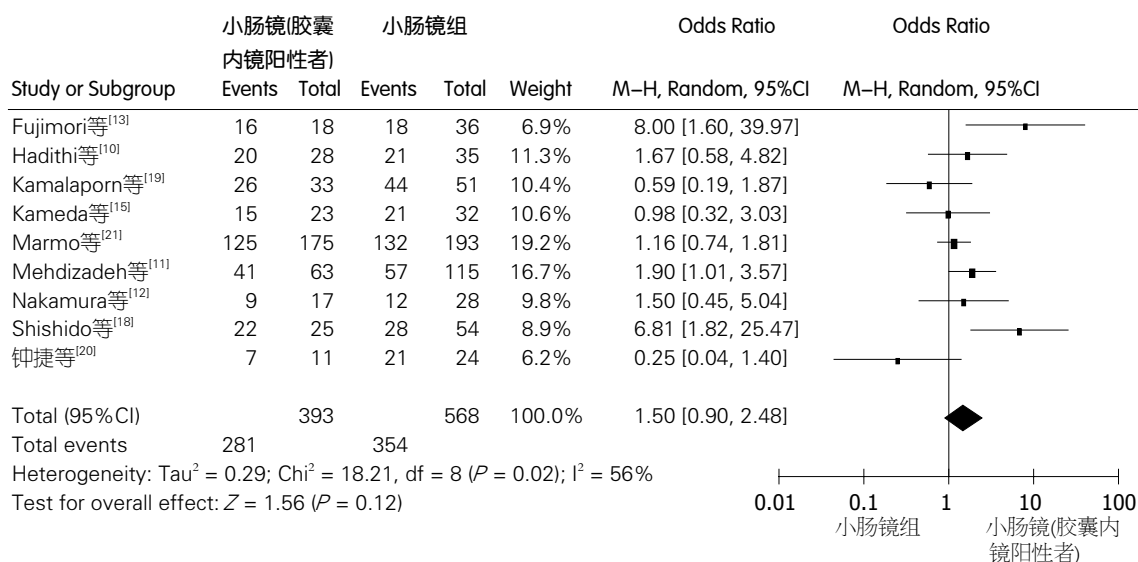


图2 胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中诊断率的Meta分析结果。

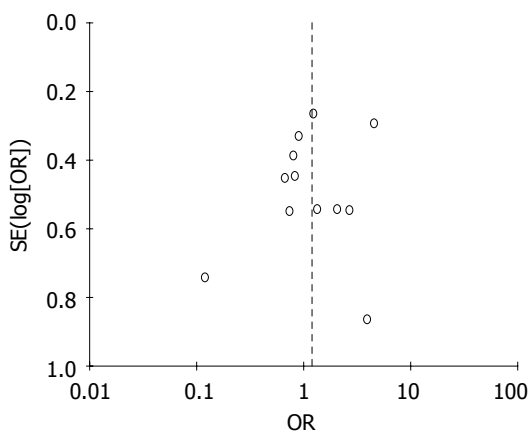


图3 胶囊内镜和小肠镜对不明原因消化系出血诊断率比较的漏斗图。

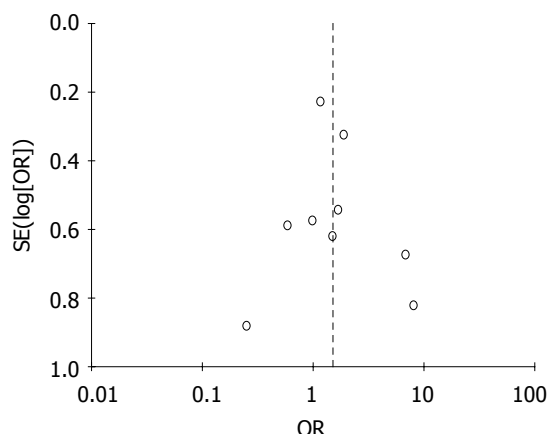


图4 胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的诊断率比较的漏斗图。

痛苦、无交叉感染、不影响患者的正常工作等优点, 患者易于接受, 特别是老年人、不能耐受小肠镜检查的患者。但其因为移动不可控制、图像分辨率不高、没有活检及治疗功能, 而且可能产生胶囊肠道滞留、不能自行排出, 需借助普通内镜或外科手术的情况; 双气囊小肠镜能够对病变部位进行定位观察, 提供高清晰的图像并可以对病变组织取活检及治疗, 但操作复杂、技术要求高、操作时间长、并发症风险高^[24-26]。

本研究通过比较胶囊内镜与双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值, 用以评估不明原因消化系出血患者的最优检查方案。Meta分析结果显示: 胶囊内镜和双气囊小肠镜对不明原因消化系出血的阳性检出率没有显著差别($OR = 1.19$, $95\%CI: 0.74-1.91$, $P = 0.48$)。亚

组分析表明胶囊内镜阳性后进行小肠镜检查与小肠镜在所有患者中的阳性检出率比较没有显著差异($OR = 1.50$, $95\%CI: 0.90-2.48$, $P = 0.12$)。因此, 胶囊内镜和双气囊小肠镜在不明原因消化系出血的患者中具有相似的诊断率, 并且胶囊内镜阳性后再进行小肠镜检查并不能提高诊断率。

本研究与国外部分相关研究的分析结果不符^[27,28], 考虑主要原因有: 国外的研究纳入文献包括了一些回顾性研究的结果, 而这些回顾性研究结果样本量较大, 对最终结果产生偏差; 纳入文献偏倚较严重, 结果可靠性不高; 近期不同研究结果的文献相继发表, 对最终Meta分析的结果有影响。本比较研究的缺陷是大部分研究胶囊内镜在小肠镜检查之前, 而且未对内镜专业人员进行设盲。考虑到如果有胶囊内镜结果,

■ 创新盘点

本研究提示, 胶囊内镜和双气囊小肠镜在不明原因消化系出血的患者中具有相似的诊断率, 胶囊内镜阳性后再进行小肠镜检查并不能提高诊断率。这与国外部分相关研究的分析结果不一致, 考虑主要原因有: 国外的研究纳入文献包括了一些回顾性研究的结果, 纳入文献偏倚较严重, 结果可靠性不高; 近期不同研究结果的文献相继发表, 对最终Meta分析的结果有影响。

■应用要点

该研究结果表明,对于不明原因消化系出血的患者,先行胶囊内镜检查,若胶囊内镜检查阴性再行小肠镜检查可能是一个可行的检查策略,但对于胶囊内镜检查阳性者,再行小肠镜检查并不能提高诊断率。

可能会使小肠镜诊断率产生检测偏倚。这些研究的联合诊断率结果为偏向于胶囊内镜,但没有显著性差异。

总之,Meta分析结果表明胶囊内镜和双气囊小肠镜在对胃肠道出血患者进行评估中具有相似的诊断率。考虑到胶囊内镜的非创伤性及患者的易接受性,因此对于不明原因消化系出血的患者首先进行胶囊内镜检查可能是更好的选择。胶囊内镜检查阴性的患者行小肠镜检查部分患者可有阳性发现,但胶囊内镜阳性后再行小肠镜检查并不能提高诊断率。因此,对于不明原因消化系出血的患者,先行胶囊内镜检查,若胶囊内镜检查阴性再行小肠镜检查可能是一个可行的检查策略,但对于胶囊内镜检查阳性者,再行小肠镜检查并不能提高诊断率。

4 参考文献

- 1 Yamamoto H, Kita H, Sunada K, Hayashi Y, Sato H, Yano T, Iwamoto M, Sekine Y, Miyata T, Kuno A, Ajibe H, Ido K, Sugano K. Clinical outcomes of double-balloon endoscopy for the diagnosis and treatment of small-intestinal diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1010-1016 [PMID: 15551254]
- 2 Ling J, Lamsen M, Coron R, Deliana D, Siddiqui S, Rangraj M, Jesmajian S. Recurrent Lower Gastrointestinal Bleeding: Ileal GIST Diagnosed by Video Capsule Endoscopy-A Case Report and Literature Review. *Case Rep Gastrointest Med* 2013; 2013: 285457 [PMID: 24027646 DOI: 10.1155/2013/285457]
- 3 Rahmi G, Samaha E, Lorenceau-Savale C, Landi B, Edery J, Manière T, Canard JM, Malamut G, Chatellier G, Cellier C. Small bowel polypectomy by double balloon enteroscopy: Correlation with prior capsule endoscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 219-225 [PMID: 23678374 DOI: 10.4253/wjge.v5.i5.219]
- 4 Tenembaum D, Sison C, Rubin M. Accuracy of community based video capsule endoscopy in patients undergoing follow up double balloon enteroscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 154-159 [PMID: 23596537 DOI: 10.4253/wjge.v5.i4.154]
- 5 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12 [PMID: 8721797]
- 6 Hoeve M, Stams GJ, van der Put CE, Dubas JS, van der Laan PH, Gerris JR. A meta-analysis of attachment to parents and delinquency. *J Abnorm Child Psychol* 2012; 40: 771-785 [PMID: 22278802 DOI: 10.1007/s10802-011-9608-1]
- 7 王珍, 张永红, 徐巧巧. 几种发表性偏倚评估方法介绍. *中国卫生统计* 2009; 26: 539-541
- 8 麦劲壮, 李河, 方积, 刘小清, 饶栩栩. Meta分析中失安全系数的估计. *循证医学* 2006; 6: 297-303
- 9 Matsumoto T, Esaki M, Moriyama T, Nakamura S, Iida M. Comparison of capsule endoscopy and enteroscopy with the double-balloon method in patients with obscure bleeding and polyposis. *Endoscopy* 2005; 37: 827-832 [PMID: 16116533 DOI: 10.1055/s-2005-870207]
- 10 Hadithi M, Heine GD, Jacobs MA, van Bodegraven AA, Mulder CJ. A prospective study comparing video capsule endoscopy with double-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 52-57 [PMID: 16405533 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00346.x]
- 11 Mehdizadeh S, Ross A, Gerson L, Leighton J, Chen A, Schembre D, Chen G, Semrad C, Kamal A, Harrison EM, Binmoeller K, Waxman I, Kozarek R, Lo SK. What is the learning curve associated with double-balloon enteroscopy? Technical details and early experience in 6 U.S. tertiary care centers. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 740-750 [PMID: 17055868 DOI: 10.1016/j.gie.2006.05.022]
- 12 Nakamura M, Niwa Y, Ohmiya N, Miyahara R, Ohashi A, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Preliminary comparison of capsule endoscopy and double-balloon enteroscopy in patients with suspected small-bowel bleeding. *Endoscopy* 2006; 38: 59-66 [PMID: 16429356 DOI: 10.1055/s-2005-870446]
- 13 Fujimori S, Seo T, Gudis K, Tanaka S, Mitsui K, Kobayashi T, Ehara A, Yonezawa M, Tatsuguchi A, Sakamoto C. Diagnosis and treatment of obscure gastrointestinal bleeding using combined capsule endoscopy and double balloon endoscopy: 1-year follow-up study. *Endoscopy* 2007; 39: 1053-1058 [PMID: 18072055 DOI: 10.1055/s-2007-967014]
- 14 Ohmiya N, Yano T, Yamamoto H, Arakawa D, Nakamura M, Honda W, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Maeda O, Ando T, Yao T, Matsui T, Iida M, Tanaka S, Chiba T, Sakamoto C, Sugano K, Goto H. Diagnosis and treatment of obscure GI bleeding at double balloon endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: S72-S77 [PMID: 17709039 DOI: 10.1016/j.gie.2007.05.041]
- 15 Kameda N, Higuchi K, Shiba M, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Tanigawa T, Watanabe K, Watanabe T, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Arakawa T. A prospective, single-blind trial comparing wireless capsule endoscopy and double-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *J Gastroenterol* 2008; 43: 434-440 [PMID: 18600387 DOI: 10.1007/s00535-008-2182-9]
- 16 Arakawa D, Ohmiya N, Nakamura M, Honda W, Shirai O, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Maeda O, Ando T, Goto H. Outcome after enteroscopy for patients with obscure GI bleeding: diagnostic comparison between double-balloon endoscopy and videocapsule endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 866-874 [PMID: 19136098 DOI: 10.1016/j.gie.2008.06.008]
- 17 Fukumoto A, Tanaka S, Shishido T, Takemura Y, Oka S, Chayama K. Comparison of detectability of small-bowel lesions between capsule endoscopy and double-balloon endoscopy for patients with suspected small-bowel disease. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 857-865 [PMID: 19136103 DOI: 10.1016/j.gie.2008.06.007]
- 18 Shishido T, Oka S, Tanaka S, Aoyama T, Watari I, Imagawa H, Yoshida S, Chayama K. Diagnostic yield of capsule endoscopy vs. double-balloon endoscopy for patients who have undergone total enteroscopy with obscure gastrointestinal bleeding. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 955-959 [PMID: 22580642]
- 19 Kamalapor P, Cho S, Basset N, Cirocco M, May

- G, Kortan P, Kandel G, Marcon N. Double-balloon enteroscopy following capsule endoscopy in the management of obscure gastrointestinal bleeding: outcome of a combined approach. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 491-495 [PMID: 18478135]
- 20 钟捷, 张晨莉, 马天乐, 金承荣, 吴云林, 江石湖. 双气囊小肠镜与胶囊内镜诊断小肠出血病因比较. *中华消化杂志* 2004; 12: 741-744
- 21 Marmo R, Rotondano G, Casetti T, Manes G, Chilovi F, Sprujevnik T, Bianco MA, Brancaccio ML, Imbesi V, Benvenuti S, Pennazio M. Degree of concordance between double-balloon enteroscopy and capsule endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding: a multicenter study. *Endoscopy* 2009; 41: 587-592 [PMID: 19588285 DOI: 10.1055/s-0029-1214896]
- 22 Hu E, Nosato H, Sakanashi H, Murakawa M. A modified anomaly detection method for capsule endoscopy images using non-linear color conversion and Higher-order Local Auto-Correlation (HLAC). *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2013; 2013: 5477-5480 [PMID: 24110976]
- 23 Sidhu PS, McAlindon ME, Drew K, Sidhu R. Diagnostic yield of small-bowel capsule endoscopy in patients with iron deficiency anemia: does it affect management? *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 800-801 [PMID: 24120341 DOI: 10.1016/j.gie.2013.06.022]
- 24 智发朝, 白杨, 徐智民, 姜泊, 周殿元. 双气囊内镜与胶囊内镜检查对小肠疾病诊断价值的对比研究. *中国消化内镜* 2007; 1: 24-26
- 25 Riccioni ME, Urgesi R, Cianci R, Spada C, Nista EC, Costamagna G. Single-balloon push-and-pull enteroscopy system: does it work? A single-center, 3-year experience. *Surg Endosc* 2011; 25: 3050-3056 [PMID: 21487872 DOI: 10.1007/s00464-011-1669-2]
- 26 Mönkemüller K, Neumann H, Meyer F, Kuhn R, Malfertheiner P, Fry LC. A retrospective analysis of emergency double-balloon enteroscopy for small-bowel bleeding. *Endoscopy* 2009; 41: 715-717 [PMID: 19670141 DOI: 10.1055/s-0029-1214974]
- 27 Teshima CW, Kuipers EJ, van Zanten SV, Mensink PB. Double balloon enteroscopy and capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding: an updated meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 796-801 [PMID: 21155884 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06530.x]
- 28 Albert JG, Nachtigall F, Wiedbrauck F, Dollinger MM, Gittinger FS, Hollerbach S, Wienke A. Minimizing procedural cost in diagnosing small bowel bleeding: comparison of a strategy based on initial capsule endoscopy versus initial double-balloon enteroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 679-688 [PMID: 20446352]

■同行评价

本文设计合理, 资料详实, 结果可靠, 讨论结合文献, 依据充分, 有较大的临床指导价值。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝内胆管腺瘤的超声造影表现1例

温艳婷, 敬基刚, 罗燕

■背景资料

该例患者于常规体检时发现肝脏占位, 术前行超声造影提示富血供肿块, 但由于对肝内胆管腺瘤的超声造影特征缺乏认识, 难以在术前确诊。本文提示在发现肝脏富血供肿块时应结合病史, 拓展诊断思路。

温艳婷, 敬基刚, 罗燕, 四川大学华西医院超声诊断科 四川省成都市 610041

温艳婷, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的超声研究。

作者贡献分布: 温艳婷对此文作主要贡献; 资料整理由温艳婷与敬基刚完成; 本文写作由温艳婷完成; 审校由罗燕完成。

通讯作者: 罗燕, 教授, 610041, 四川省成都市武侯区国学巷37号, 四川大学华西医院超声诊断科. luoyan15975@126.com
电话: 028-85422304

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-18

Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of an intrahepatic bile duct adenoma

Yan-Ting Wen, Ji-Gang Jing, Yan Luo

Yan-Ting Wen, Ji-Gang Jing, Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yan Luo, Professor, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, 37 Guoxuexiang, Wuhou District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyan15975@126.com
Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-18

Abstract

Intrahepatic bile duct adenoma is a rare clinical entity which was frequently found in routine physical examinations. It is easy to be misdiagnosed due to its unspecific ultrasonographic characteristics. The major contrast-enhanced ultrasonographic characteristic of the present case was "fast in and fast out" pattern, which is difficult to be differentiated from those hypervascular hepatic tumors. The contrast-enhanced ultrasonographic characteristics need to be further studied.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Intrahepatic bile duct; Adenoma; Ultrasonography; Contrast medium

Wen YT, Jing JG, Luo Y. Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of an intrahepatic bile duct adenoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(35): 4066-4068 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4066.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4066>

摘要

肝内胆管腺瘤临床少见, 多于常规体检时发现, 其常规超声表现特征性不明显, 易造成误诊。本例患者超声造影表现为“快进快出”, 不易与富血供的肝肿瘤相鉴别。由于病例极少, 其超声造影特征有待进一步研究。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝内胆管; 腺瘤; 超声检查; 造影剂

核心提示: 本例患者超声造影表现为“快进快出”, 不易与富血供的肝脏肿瘤相鉴别。这与文献报道中肝内胆管腺瘤的造影特征相符, 为该病的临床诊断提供了更多影像学资料。

温艳婷, 敬基刚, 罗燕. 肝内胆管腺瘤的超声造影表现1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(35): 4066-4068 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4066.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i35.4066>

0 引言

肝内胆管腺瘤是一种起源于胆管黏膜上皮的良性肿瘤^[1]。男女发病率无差异, 临床表现以腹痛、胃部不适多见。其影像学检查常表现为肝包膜下的单发性结节, 难与其他肝脏肿瘤鉴别, 因此术前常难以确诊, 多于手术切除后病理证实, 治疗手段以局部手术切除为主。目前国内文献中报道极少, 且尚无其超声造影的相关报道, 现将我院1例肝内胆管腺瘤超声造影的表现报道如下。

1 病例报告

患者, 男, 26岁, 体检发现肝脏占位就诊, 无相关临床症状及阳性体征。葡萄糖7.88 mmol/L(正常值3.9-5.9 mmol/L), 尿酸541 μmol/L(正常值240-490 μmol/L), 甘油三酯4.15 mmol/L(正常值

■同行评议者

康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

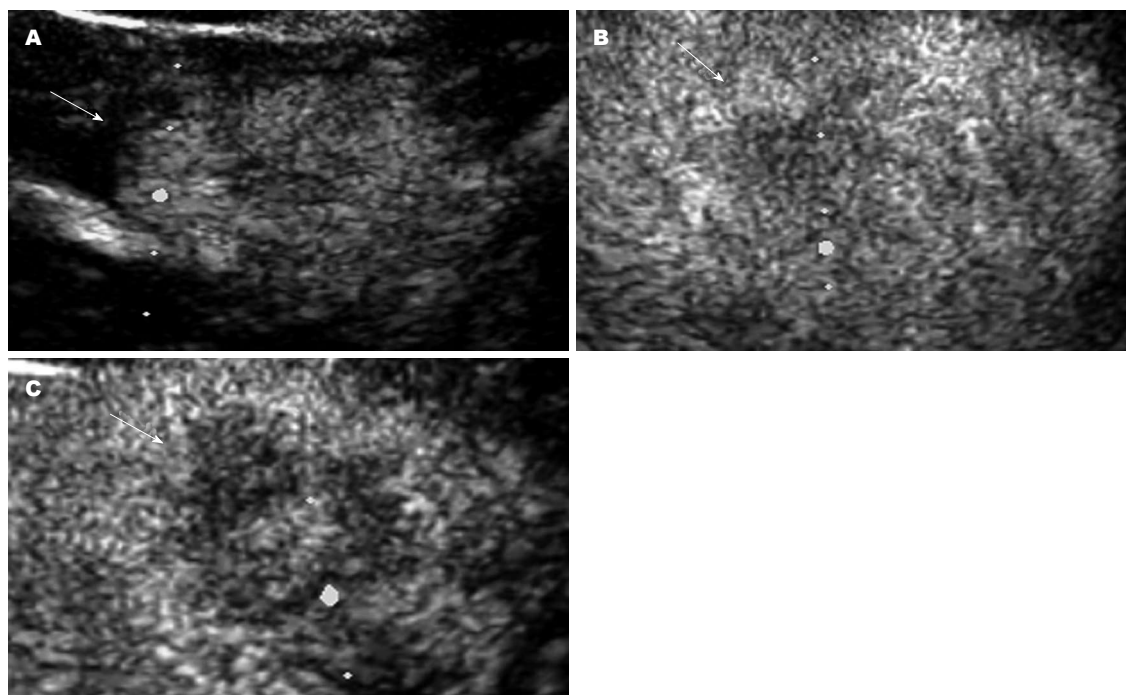


图1 肝左外叶肿块超声造影后表现(白色箭头示)。A: 动脉期呈高增强; B: 门脉期开始廓清, 呈不均匀低增强; C: 实质期呈不均匀低增强。

■ 研究前沿

本病临床较为罕见, 文献报道中造影特征均表现为富血供肿块, 但由于对该病缺乏经验和认识, 往往术前确诊困难, 且易被误诊。目前尚无肝内胆管腺瘤的影像学诊断标准。

0.29-1.83 mmol/L), 甲胎蛋白3.11 ng/mL(正常值<8 ng/mL), 余血清指标无明显异常。患者既往无肝炎及酗酒史。我院彩超示: 肝脏实质回声增强, 左外叶查见大小约48 mm×42 mm×35 mm的弱回声团块, 边界较清楚, 形态欠规则, 内未见明显血流信号。行超声造影检查示: 动脉期团块呈高增强; 门脉期与实质期呈不均匀低增强(图1)。结果示: 脂肪肝, 左肝实性占位: 炎性假瘤? 原发性肝癌(hepatic cell carcinoma, HCC)待排。磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)增强扫描示: 肝左外叶富动脉血供肿块占位, 考虑原发性肝癌可能。术中见: 肝脏质地柔软, 左外叶见40 mm×30 mm×30 mm包块, 术后剖视标本见包块呈局灶结节增生状。术后诊断: 左肝占位: 肝脏局灶性结节增生(focal nodular hyperplasia, FNH)? 术后病理: 肝内胆管腺瘤。

2 讨论

肝内胆管腺瘤十分罕见, 临床表现多无症状, 几乎不恶变, 预后较好, 是一种起源于胆管黏膜上皮的良性肿瘤, 可广泛累及胆道系统。其声像图表现易与肝脏恶性肿瘤相混淆, 甚至在快速冰冻检查时, 也不易与胆管癌或肝脏转移癌相鉴别。常规超声下肝内胆管腺瘤多表现为单发性

结节, 靠近肝包膜下, 直径多为1-20 mm, 边界较清楚, 无包膜。文献报道中个别体积较大, 可能与肿瘤内部囊性变或出血有关^[2], 本例亦表现为体积较大, 可能与上述因素有关。超声造影在动脉期团块呈高增强(图1A), 门脉期与实质期呈不均匀低增强(图1B, C), 此增强方式与肝细胞癌“快进快出”的表现类似。国外文献报道该病例在增强CT或MRI时表现为动脉期高增强的富血供肿块, 门脉期开始消退或持续增强, 应与具备富血供特征的肝脏肿瘤相鉴别^[3,4], 本例病灶也表现出相似的造影特征, 因此在术前难以确诊, 甚至导致误诊。由于目前该病例文献报道极少, 其超声造影特征有待进一步研究和总结。

3 参考文献

- 1 蒋昭实, 陈杰. 肝内胆管腺瘤1例. 诊断病理学杂志 1998; 6: 117
- 2 Koga F, Tanaka H, Takamatsu S, Baba S, Takihara H, Hasegawa A, Yanagihara E, Inoue T, Nakano T, Ueda C, Ono W. A case of very large intrahepatic bile duct adenoma followed for 7 years. *World J Clin Oncol* 2012; 3: 63-66 [PMID: 22574289 DOI: 10.5306/wjco.v3.i4.63]
- 3 Tajima T, Honda H, Kuroiwa T, Yoshimitsu K, Irie H, Aibe H, Taguchi K, Shimada M, Masuda K. Radiologic features of intrahepatic bile duct adenoma: a look at the surface of the liver. *J Comput Assist Tomogr* 1999; 23: 690-695 [PMID: 10524847 DOI: 10.1097/00004728-199909000-00008]

■同行评价

本文通过对1例肝内胆管腺瘤患者的临床资料进行分析,探讨肝内胆管腺瘤的影像学诊断方法。为肝内胆管腺瘤的诊断提供了影像学资料,有一定的临床价值。

- 4 Takumi K, Fukukura Y, Nagasato K, Nakajo M, Natsugoe S, Higashi M. Intrahepatic bile duct adenoma mimicking hepatic metastasis: case report

and review of the literature. *Magn Reson Med Sci* 2013; 12: 141-145 [PMID: 23666160 DOI: 10.2463/mrms.2012-0078]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白岚 教授
南方医院惠侨科

白玉作 教授
中国医科大学附属盛京医院小儿外科

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

戈之铮 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

康春博 副主任医师
北京大学航天临床医院普通外科

李淑德 教授
第二军医大学长海医院消化内科

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

刘亮明 副教授
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

牛英才 研究员
齐齐哈尔医学院医药科学研究所

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

汤静 主管药师
上海交通大学附属第一人民医院药学部

虞必光 教授
遵义医学院附属医院消化科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

余日胜 主任医师
浙江大学医学院附属第二医院放射科

俞继卫 副主任医师
上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

赵刚 副教授
协和医院胰腺病研究所

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：_____





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

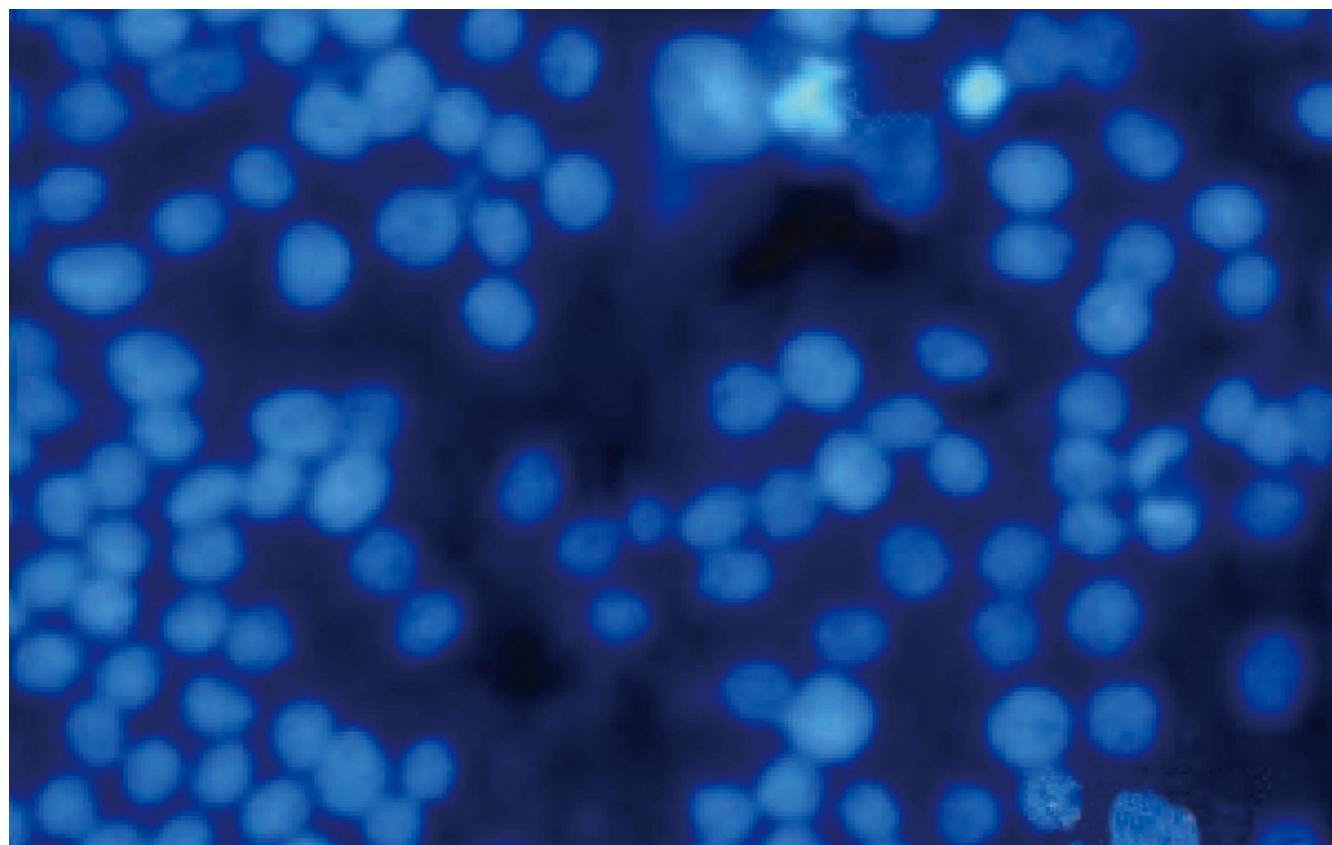


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 12 月 28 日 第 21 卷 第 36 期 (Volume 21 Number 36)



36/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 12 月 28 日 第 21 卷 第 36 期 (总第440期)

述 评	4069 神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展 杜顺达, 王孜, 毛一雷
基础研究	4075 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制 梁凤, 王昌成, 费素娟
临床研究	4084 幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素 江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健
文献综述	4092 胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系 吴光勤, 王雯 4098 胃癌HER2检测的进展 丁然, 余英豪 4104 急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展 高加林, 施晓雷 4110 炎症性肠病血清学标志物的研究进展 王建强, 黄缘
研究快报	4116 miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达 雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东 4121 骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系 戴文玲, 黄海峰, 陆翠华 4127 益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制 王丽, 李显辉 4133 TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系 黄适, 张涛, 陈远能, 黄斌, 王坚
临床经验	4140 高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点 刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红 4146 基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白 韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶 4153 戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义 耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春 4158 血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝的相关性 罗晓英, 曾峥 4164 乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性 柯月, 杨涛, 姚萍 4170 多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨 吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕 4175 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达 李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢 4180 联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价 应勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何晓 4185 壶腹部肿瘤的诊断与局部切除 陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义 4189 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用 朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞 4194 电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值 陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦 4200 阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用 苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成 4204 MLH1基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析 曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖

病例报告	4210 酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例 张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	4083 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 4091 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 4126 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 4132 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 4139 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 4163 《世界华人消化杂志》修回稿须知 4169 《世界华人消化杂志》外文字符标准 4174 《世界华人消化杂志》出版流程 4184 《世界华人消化杂志》正文要求 4193 《世界华人消化杂志》参考文献要求 4212 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
封面故事	梁凤, 王昌成, 费素娟. 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4075-4083 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4075
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

December 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 36

EDITORIAL	4069 Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases <i>Du SD, Wang Z, Mao YL</i>
BASIC RESEARCH	4075 Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109 <i>Liang F, Wang CC, Fei SJ</i>
CLINICAL RESEARCH	4084 Prevalence of and risk factors for <i>Helicobacter pylori</i> infection in Chinese military personnel <i>Jiang HL, Chen FW, Xia XL, Tian J, Han QF, Zhong Q, Chen ZJ, Jiang JC, Liu XJ</i>
REVIEW	4092 Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease <i>Wu GQ, Wang W</i> 4098 New advances in HER2 testing in gastric cancer <i>Ding R, Yu YH</i> 4104 Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure <i>Gao JL, Shi XL</i> 4110 Serological markers of inflammatory bowel disease <i>Wang JQ, Huang Y</i>
RAPID COMMUNICATION	4116 MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells <i>Lei YP, Chen HX, Zhou XD</i> 4121 Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis <i>Dai WL, Huang HF, Lu CH</i> 4127 Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease <i>Wang L, Li XH</i> 4133 Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome <i>Huang S, Zhang T, Chen YN, Huang B, Wang J</i>
CLINICAL PRACTICE	4140 Colonoscopic characteristics of serrated adenomas <i>Liu KL, Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu H</i> 4146 Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS <i>Wei CH, Lai MY, Mo XJ</i> 4153 Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients <i>Geng YS, Li HQ, Zhang HX, Lian HC, Li J, Geng KJ, Zhou YC</i> 4158 Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease <i>Luo XY, Zeng Z</i> 4164 Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi <i>Ke Y, Yang T, Yao P</i> 4170 Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis <i>Wu SN, Qi YM, Chen YJ, Xiao HJ, Hao CM, Wang X</i> 4175 Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG 2 cells via HIF-1 α <i>Li HY, Yang FQ, Li Y, Liu D, Liu JG</i> 4180 Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients <i>Ying Y, Luo JF, Zhang WH, Wang XN, He X</i> 4185 Diagnosis and local resection of ampullary tumors <i>Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Qin RY</i> 4189 Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases <i>Zhu M, Tang J, Jin XW, Mao GP, Ning SB, Zhang J, Li YF</i> 4194 Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases <i>Chen SL, Xie HP, Wu XL, Li PY, Liu M, Tian DA, Zhou Q</i>

	<p>4200 Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer <i>Miao FY, Li YF, Bu XH, Zhang FC</i></p> <p>4204 Relationship between <i>MLH1</i> promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis <i>Zeng JR, Ruan ZM, Mo LF, Chen H</i></p>
CASE REPORT	<p>4210 Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report <i>Zhang WJ, Guo Y, Jiang SL, Gong CJ, Gao YM</i></p>
APPENDIX	<p>I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p> <p>I Meeting events calendar in 2013</p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p>
COVER	<p><i>Liang F, Wang CC, Fei SJ.</i> Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(36): 4075-4083 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4075</p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展

杜顺达, 王孜, 毛一雷

杜顺达, 王孜, 毛一雷, 中国医学科学院 北京协和医院肝脏外科 北京市 100730

杜顺达, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝功能评估、肝肿瘤诊治等的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30901453

作者贡献分布: 杜顺达与王孜负责文献检索与阅读、文章书写; 毛一雷与杜顺达负责总体论文框架与方向选择。

通讯作者: 杜顺达, 副教授, 副主任医师, 100730, 北京市东城区帅府园1号, 中国医学科学院, 北京协和医院肝脏外科。

shundadu@sina.com

收稿日期: 2013-08-04 修回日期: 2013-09-22

接受日期: 2013-10-20 在线出版日期: 2013-12-28

Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases

Shun-Da Du, Zi Wang, Yi-Lei Mao

Shun-Da Du, Zi Wang, Yi-Lei Mao, Department of Liver Surgery, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901453

Correspondence to: Shun-Da Du, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Liver Surgery, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College Hospital, 1 Shuaifuyuan, Dongcheng District, Beijing 100730, China. shundadu@sina.com

Received: 2013-08-04 Revised: 2013-09-22

Accepted: 2013-10-20 Published online: 2013-12-28

Abstract

Although neuroendocrine neoplasms are characterized by slow progression and indolent biology, most patients develop early hepatic metastasis. Surgical resection is currently the only way to cure. One- or two-step procedures may be undertaken to remove the primary tumor and hepatic metastasis as thoroughly as possible. Liver transplantation is difficult to be widely applied due to resource scarcity. Other drawbacks include strict criteria for patient selection and high recurrence rate. Liver-directed therapies, mainly referring to TAE/TACE and RFA, are widely used in NET G1/G2 patients. Pharmacological therapies include somatostatin analogues, targeted therapy and systemic chemotherapy. Some clinical trials have demonstrated longer OS and PFS in experimental groups compared with placebo groups. Currently, a combined-

modality approach including surgery, liver-targeted therapy and medication is the trend in treatment of NEN hepatic metastases. How to determine the most suitable strategy in specific clinical circumstances? Which subpopulation of patients will benefit most from a specific therapy? We expect more clinical evidence of high quality to answer these questions.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Neuroendocrine neoplasm; Hepatic metastases; Surgical resection; Liver transplantation; Conservative therapy

Du SD, Wang Z, Mao YL. Therapeutic advances in neuroendocrine neoplasms with hepatic metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4069-4074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4069.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4069>

摘要

神经内分泌肿瘤具有惰性生长特点, 但易早期发生肝转移。手术仍是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤的治疗手段, 主张一次或多次尽可能切净原发灶与转移灶。肝移植技术由于资源稀少, 筛选患者指征严格, 复发率高, 无法广泛开展。针对肝脏的非手术治疗主要包括肝动脉介入栓塞/化疗、射频消融等, 目前应用广泛、安全性好。药物治疗, 主要包括生长抑素类似物、靶向药物和化疗药物, 能有效延长部分患者的无病生存期与总生存期。手术联合肝脏非手术治疗与药物治疗, 是神经内分泌肿瘤肝转移的治疗策略。但是如何挑选最合适的时机确定最适宜的干预方式, 如何确定不同治疗的最适宜人群, 尚需要更多循证医学证据。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 神经内分泌肿瘤; 肝转移; 手术切除; 肝移植; 保守治疗

核心提示: 手术仍是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤的治疗手段, 主张一次或多次尽可能切净原发灶与转移灶。非手术治疗主要包括肝动脉介

■背景资料

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)近年发病率逐渐增高, 早期诊断困难, 目前尚缺乏统一的诊疗标准。治疗方面, 手术仍是唯一可治愈的方法, 介入治疗、生长抑素类似物等新方法不断涌现。

■同行评议者

吕凌, 副教授, 江苏省人民医院肝脏外科

■ 研发前沿

不同治疗手段对预后的影响,目前缺乏前瞻性临床研究证据。

入栓塞/化疗、射频消融等。如何挑选最合适的时间确定最适宜的干预方式,如何确定不同治疗的最适宜人群,尚需要更多循证医学证据。

杜顺达,王玟,毛一雷. 神经内分泌肿瘤肝转移治疗的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4069-4074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4069.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4069>

0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)是一组起源于肽能神经元和内分泌细胞的异质性肿瘤。内分泌细胞不仅在人体主要腺体(如甲状腺、甲状旁腺)聚集,而且在胃肠道、呼吸道甚至卵巢、宫颈等腺体外部位也有分布。来源于神经元细胞的NEN则主要包括嗜铬细胞瘤与副神经节瘤。1963年Williams等^[1]首次将NEN按其胚胎发育,分为前肠型(肺、胸腺、食管、胃、十二指肠第一部分和胰腺)、中肠型(十二指肠第二部分、空肠、回肠、阑尾和升结肠)以及后肠型(横结肠、降结肠和直肠),其中来源于前肠的胃肠胰神经内分泌肿瘤最为常见,约占神经内分泌肿瘤的55%-70%。北京协和医院近20年的数据显示,住院NEN患者原发灶部位居前3位的分别是胰腺、胃和小肠^[2]。

神经内分泌肿瘤具有惰性生长、但易早期转移的特点。肝脏是最常见的转移部位,发生率高达44%-73%^[3]。大多数NEN肝转移患者原发灶相关临床症状并不特异,患者常因体检发现肝占位或肝脏功能受损相关症状如黄疸、腹水等就诊。

长期以来,NEN在分类和分级方面缺乏能被医学界广泛接受的标准^[2]。2006年,欧洲神经内分泌肿瘤协会(European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS)修订了NEN的病理分级标准^[4],按细胞分裂指数及Ki-67阳性指数对肿瘤恶性程度进行分级(表1)。2008年Pape等^[5]将基于ENETS分级系统分组进行回顾性病例研究提示:G1、G2和G3患者的5年生存率分别为95.7%、73.4%和27.7%。该系统被WHO采纳为2010年最新分级标准。

ENETS在2012年最新专家共识中对肝转移灶也做了分类^[6]:(1)简单侵犯:肝转移灶局限于一侧肝叶或相邻肝段,可经标准术式切除。见于20%-25%的病例;(2)复杂侵犯:主要侵犯一处肝叶,周围有多个卫星灶伴行。见于10%-15%病例;(3)弥漫侵犯:弥漫、多灶转移,见于

60%-70%病例。

神经内分泌肿瘤肝转移的治疗,从传统的手术切除、到局部介入栓塞再到新兴的靶向治疗,取得较大的进展。本文将重点介绍近年来的研究进展。

1 早期诊断

胃肠胰神经内分泌肿瘤的预后相对较好,在诊断和治疗上应采取比较积极的态度,从而取得更长的生存期。诊断分为定性诊断与定位诊断。定性诊断可检测有功能神经内分泌肿瘤的血清相应激素水平,包括胰岛素、胰高血糖素和胃泌素等。血清嗜铬粒蛋白A(chromogranin A, CgA)则适用于所有神经内分泌肿瘤,可用于疾病筛查和治疗后肿瘤监测,目前已有多种成熟的商用检测试剂盒^[7]。定位诊断包括传统影像学技术,如CT、超声与核磁。更特异于神经内分泌肿瘤的检查技术为生长抑素受体显像,其敏感度根据肿瘤类型有所不同,对于胃肠胰神经内分泌肿瘤超过75%,其中胰岛素瘤仅为中度敏感(40%-75%)^[8]。

2 手术治疗

2.1 手术切除 手术切除是目前唯一可能根治神经内分泌肿瘤及其转移灶的方式,能有效缓解症状,部分患者能有效延长生存期。手术包括对原发灶和肝转移灶的切除。Kleine等^[9]进行的回顾性队列研究提示,切除肝转移灶的胰腺NEN病例组与未切除组相比,死亡率显著降低($HR = 9.24, P = 0.049$),且前者的疾病相关生存率与无肝转移病例组相似。Sarmiento等^[10]对170例接受肝转移灶切除手术的患者研究显示:5年生存率为61%,10年生存率为35%;在108例临床症状明显的患者中,104例症状得到控制。术后并发症发生率为14%。目前广为接受的手术策略是:应尽可能同时切除转移灶和原发灶;如单次手术无法切除全部病灶,可采用手术切除联合射频消融术;如肿瘤巨大或患者身体状况受限制,原发灶与转移灶可分期切除;对于无法根治性切除的患者,应建议行减瘤手术,如能切除肿瘤负荷的90%以上,无功能NEN患者生存时间将可能显著延长^[9]。北京协和医院对1例无功能性胰腺神经内分泌肿瘤(G2)肝多发转移患者,行原发灶联合部分转移灶切除、剩余转移灶分期切除,获得了较好的效果。此外,减瘤手术还能控制功能性NEN患者的临床症状,改善生活质量

表 1 神经内分泌肿瘤的分级标准

分级	核分裂象数(10 HPF)	Ki-67阳性指数(%)
G1, 低级别	1	<2
G2, 中级别	2-20	3-20
G3, 高级别	>20	>20

量。一般认为, 手术切除适用于病理分级低(NET G1/G2)、转移灶单一或能一次切除的患者^[6], 高级别原发灶患者(NET G3)接受根治性手术或是减瘤手术, 远期生存是否依然获益, 还有待更多病例的研究数据。

关于原发灶和转移灶切除先后的问题, 应视具体情况; 有时可先切除转移灶, 再切除原发灶。De Jong等^[11]的研究结果发现, 如先行胰十二指肠切除, 再二期切除肝脏, 肝脓肿的发病率明显升高, 因此建议先行肝转移灶切除术, 再二期行胰十二指肠切除术。

除此之外, NEN肝转移灶手术切除遇到的最大问题是高复发率。Mayo等^[12]发现, 尽管手术切除能够有效延长生存时间, 但高达94%的患者会在5年内复发。高复发率可能与NEN本身独特的生物学特性相关, 这为改良手术方式、手术联合其他治疗以期降低复发率提供了理论基础。

2.2 肝移植 原发灶局限伴广泛肝转移的患者, 综合分析其全身情况、转移灶分布等情况, 可以考虑行原发灶切除+同种异体肝移植。肝移植目前只在较少的医学中心开展, 规模最大的研究由Lehnert^[13]完成, 包括103例病例, 其2年生存率是60%, 5年生存率是47%, 但是无瘤5年生存率不超过24%。肝移植创伤大、后续治疗复杂、治疗费用昂贵、且复发率高, 并不建议用于NET肝转移患者的常规治疗。中华医学会外科学分会胰腺外科学组^[14]提出PNET肝转移行肝移植的指征包括: (1)神经内分泌肿瘤肝脏转移, 无肝外转移和区域淋巴结转移; (2)胰腺和原发病灶可完整切除, 肝脏双侧叶不可切除的多发转移灶; (3)肿瘤Ki-67指数<10%; (4)存在无法用药物控制的、明显影响患者生命质量的症状, 无其他肝移植禁忌证。但如此高度选择的适应证人群移植后也不一定能够获得长期生存。

3 肝脏的非手术治疗

针对肝脏的非手术治疗包括肝动脉介入栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)、肝动脉介入化疗栓塞(transcatheter arterial chemo-

embolization, TACE)、射频消融(radiofrequency ablation, RFA)等, 能有效减少肝脏转移灶的肿瘤负荷。

3.1 TAE/TACE 较大的肝转移灶主要由肝动脉供血, 这是TAE/TACE治疗NET肝转移的理论基础。如肝转移灶数目较少、体积较大, 可使用微导管进行超选择栓塞; 如肝转移灶数目众多或无明显增粗的供血动脉, 则将导管插到肝固有动脉水平进行栓塞。肝内广泛转移的患者原则上不是TAE/TACE的适应证, 如需进行, 应分次栓塞, 以免发生急性肝功能衰竭和严重并发症。栓塞剂通常采用超液态碘油10-20 mL与表阿霉素或链脲霉素20-40 mg的混合乳剂, 栓塞程度控制在动脉血流速度明显减慢、肿瘤染色基本消失^[15]。TAE/TACE常应用于治疗NET G1/G2肝转移的患者, 操作可多次重复, 但短期内可能行肝移植的患者应避免行TAE/TACE, 以免损伤动脉正常结构。绝对禁忌证包括完全性门脉栓塞、肝功能失代偿。TAE/TACE主要不良反应包括胆囊坏死、肝肾综合征、胰腺炎、肝脓肿和动脉瘤形成, 这和操作者的经验和术中判断有较大的关系。行Whipple术式切除原发灶的患者也应避免TAE/TACE, 因为可能增加胰腺炎、肝脓肿等并发症几率^[16]。关于TAE与TACE孰优孰劣, 以及何种化疗药物能更有效的抑制肿瘤生长, 由于缺乏大规模临床试验证据, 尚无定论。

3.2 RFA RFA在肝脏肿瘤治疗领域应用广泛, 包括冷冻消融、无水乙醇注射和RFA。其中以RFA最具备发展前景, 且临床应用经验最为丰富。RFA技术可单独应用, 也可与手术治疗联合, 作为手术切除的补充治疗手段。根据病变部位和转移的广泛程度, 可选择经皮和腹腔镜下两种电极入路方式。目前, RFA在许多中心已经成为局部治疗的首选, 部分研究显示其在缓解症状和控制转移两方面都能获得较好的效果。一项入组63例病例的前瞻性研究^[17]显示: RFA组患者70%达到完全或部分症状缓解, 维持时间为11 mo ± 2.3 mo。但RFA完全消灭转移灶的可能性随转移灶体积增大而减低。RFA不适用于直径>5 cm的病灶, 且对于肿瘤数目也有限制^[18]。在安全性方面, RFA围手术期并发症发生率与操作者的经验密切相关, 平均约5%, 术后30 d内无死亡事件报道。

4 药物治疗

当神经内分泌肿瘤为低分化(NET G3), 或肝内

■同行评价

NEN近年发病率逐渐增高, 早期诊断困难, 目前尚缺乏统一的诊疗标准, 故该综述内容较为重要。其引用的文献证据较为充分和新鲜, 反应了NEN的诊疗新进展。

表 2 各类胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞生长抑素受体表达情况(%)

	SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
胰岛素瘤	33	100	33	100	67
胃泌素瘤	33	50	17	83	50
胰高血糖素瘤	67	100	67	67	67
VIP瘤	100	100	100	100	100
无功能NET	80	100	40	100	60

弥漫转移时, 药物治疗成为选择. 药物治疗并不是特异针对肝脏, 可以作用于所有转移灶. 选择方案要结合分级分期信息和肿瘤原发灶的位置(前肠、中肠、后肠).

4.1 生长抑素类似物 长效的生长抑素类似物奥曲肽和兰乐肽最初应用于减轻类癌症状, 如潮热或水样泻. 但是, 最近越来越多的证据证明他们也有抗肿瘤生长、稳定肿瘤的作用^[19]. 生长抑素受体有5种亚型, 奥曲肽和兰乐肽与SST2和SST5亲和力最高, SST3稍低, 表2总结了不同胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞表面的生长抑素受体分布情况^[20,21].

德国研究小组于2009年报告了PROMID多中心的前瞻性研究结果, 发现接受奥曲肽长效制剂和安慰剂治疗中肠神经内分泌肿瘤患者的中位无进展生存时间分别为14.3和6.0 mo, 显示了统计学差异, 但两组总体生存期无显著性差异^[22]. 生长抑素类似物的弊端是易产生耐药性, 且有部分患者对治疗无应答. 作用受体谱更广泛的新型药物正在研究中, 如SOM230或帕西瑞泰, 其对SST1、SST2、SST3和SST5有更高的亲和力, 其中对SST1和SST5的亲和力是奥曲肽和兰乐肽的30-40倍^[23].

4.2 靶向治疗 靶向治疗是近年来NEN药物治疗的亮点之一, 主要药物有: 血管内皮生长因子(vascular epithelial grow factor, VEGF)抑制剂(包括多靶点酪氨酸激酶抑制剂)、哺乳动物雷帕霉素受体(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂.

肿瘤组织免疫组织化学方法已经证实, NEN肿瘤血供丰富, 细胞表面同样表达VEGF及其受体. 2007年Zhang等^[24]的试验证实, NEN肿瘤的VEGF表达数量与肿瘤大小还有转移倾向呈明显正相关, VEGF的过度表达通过刺激新生血管形成而促进肿瘤发展. VEGF抑制剂的代表药物为VEGF单克隆抗体贝伐单抗和酪氨酸激酶抑制剂舒尼替尼. 二者抗NEN肿瘤增殖和改善预

后已经由临床试验证实. Kulke等^[25]用2-甲氧雌二醇联合贝伐单抗治疗31例NET患者, 68%患者的影像学检查提示肿瘤缩小, 中位无进展生存期为11.3 mo. 2011年新英格兰医学杂志发表了关于舒尼替尼的III期临床试验结果: 对于进展期胰腺NEN患者, 试验组每日口服舒尼替尼37.5 mg, 中位无进展生存期为11.4 mo, 而安慰组为5.5 mo(HR = 0.42, $P < 0.001$). 与安慰组相比, 服用舒尼替尼组的无进展生存期、总生存期均获得显著提高. VEGF抑制剂主要的不良反应包括腹泻、恶心、呕吐和乏力^[26]. 由于目前的试验证据主要只针对胰腺NEN, NCCN仅正式推荐舒尼替尼用于胰腺NEN的治疗.

mTOR抑制剂是一个保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 与调控细胞凋亡相关, 代表药物是依维莫司. 磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸蛋白激酶/mTOR通路能够影响胰岛素样生长因子受体、血管内皮生长因子受体和表皮生长因子受体等下游靶点, 调节细胞生长和代谢. 已有的文献显示, 胃肠胰神经内分泌肿瘤细胞的mTOR信号通路处于失控状态, 使细胞生长代谢无序, 这是mTOR抑制剂治疗的基础. mTOR抑制剂能抑制该通路活性, 从而阻滞肿瘤生长^[27]. III期临床研究RADIANT-3显示, 依维莫司能延长进展期胰腺NET患者的无病生存期^[28].

4.3 系统化疗 目前常用的化疗方案有: 链脲霉素联合氟尿嘧啶或联合阿霉素, 应用于胰腺NET G1/G2患者, 有效率为35%-40%^[6,29]. 顺铂或奥沙利铂联合足叶乙甙也常应用于NET G3的肿瘤患者^[30]. 由于缺乏试验数据, 目前无法确定最佳疗程, 来使患者获得最大获益. 因此, 系统性化疗多用于缺乏其他临床治疗方案的进展期患者.

5 治疗方案的选择

欧洲神经内分泌肿瘤协会2012年对于原发灶病例分级为NET G1/G2、无肝外转移的患者颁布了治疗方案的专家共识^[6](图1). 与实体瘤不同,

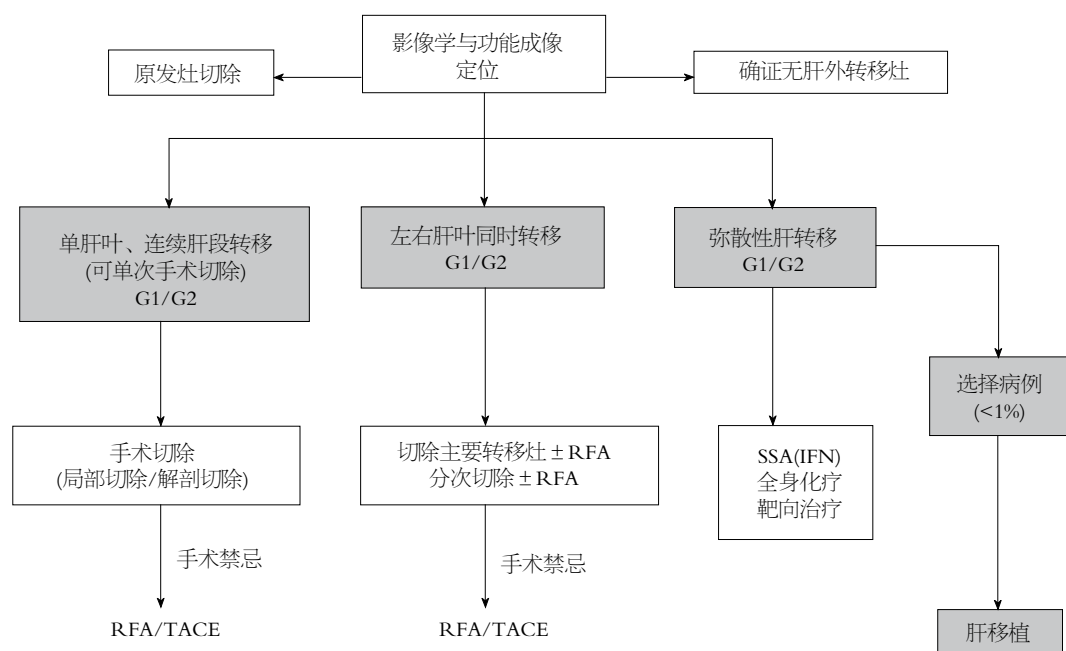


图 1 神经内分泌肿瘤肝转移(无肝外转移)的治疗共识. RFA: 射频消融; TACE: 肝动脉介入化疗栓塞.

对于有肝转移的NEN患者, 我们首先依然要尽可能切除原发灶, 再根据肝转移情况, 分别进行个体化的干预治疗: 弥漫性肝转移患者主要选择药物治疗, 对于可切除的肝转移灶, 可同期或分期切除, 手术切除联合RFA、TACE联合手术切除等.

6 结论

神经内分泌肿瘤虽然容易早期肝转移, 但其具有惰性生长特点, 合理利用病史、症状、血清学检查、肿瘤标志物等提高早期诊断, 将能有效提高手术切除率, 达到治愈的目的. 在明确诊断后, 治疗主要分两个方向, 一是控制症状, 提高生活质量; 二是延长生存期. 合理的治疗能够有效改善症状, 延长患者生存期. 在各种治疗手段中, 手术是目前唯一可能根治的治疗手段, 但并不能涵盖所有病例, 且术后存在高复发. 针对肝脏的非手术治疗和针对全身的药物化疗, 能有效的弥补单一手术的不足, 近年来发展迅速. 手术联合非手术、药物治疗, 是神经内分泌肿瘤肝转移的治疗策略, 但如何在最合适的时机选择手术、选择何种手术、是否分期手术、是否联合非手术、术后选择何种药物治疗等, 尚需更多的循证医学研究.

7 参考文献

- Williams ED, Sandler M. The classification of carcinoid tumours. *Lancet* 1963; 1: 238-239 [PMID: 14000847]

- 应红艳, 丛雪晶, 赵林, 陈书长, 王毓洲, 白春梅. 胃肠胰神经内分泌肿瘤分类和分期进展. *癌症进展* 2011; 9: 507-514
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-959 [PMID: 12569593 DOI: 10.1002/cncr.11105]
- Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006; 449: 395-401 [PMID: 16967267 DOI: 10.1007/s00428-006-0250-1]
- Pape UF, Jann H, Müller-Nordhorn J, Bockelbrink A, Berndt U, Willich SN, Koch M, Röcken C, Rindi G, Wiedenmann B. Prognostic relevance of a novel TNM classification system for upper gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer* 2008; 113: 256-265 [PMID: 18506737 DOI: 10.1002/cncr.23549]
- Pavel M, Baudin E, Couvelard A, Krenning E, Öberg K, Steinmüller T, Anlauf M, Wiedenmann B, Salazar R. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms of foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. *Neuroendocrinology* 2012; 95: 157-176 [PMID: 22262022 DOI: 10.1159/000335597]
- Rindi G, Wiedenmann B. Neuroendocrine neoplasms of the gut and pancreas: new insights. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8: 54-64 [PMID: 21808296 DOI: 10.1038/nrendo.2011.120]
- 李景南. 胃肠胰神经内分泌肿瘤的诊治. *中华医学会第九次全国消化系统疾病学术会议论文集*, 2009
- Kleine M, Schrem H, Vondran FW, Krech T, Klempnauer J, Bektas H. Extended surgery for advanced pancreatic endocrine tumours. *Br J Surg* 2012; 99: 88-94 [PMID: 22135173 DOI: 10.1002/bjs.7681]
- Sarmiento JM, Heywood G, Rubin J, Ilstrup DM, Nagorney DM, Que FG. Surgical treatment of neu-

- roendocrine metastases to the liver: a plea for resection to increase survival. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 29-37 [PMID: 12831921]
- 11 De Jong MC, Farnell MB, Sclabas G, Cunningham SC, Cameron JL, Geschwind JF, Wolfgang CL, Herman JM, Edil BH, Choti MA, Schulick RD, Nagorney DM, Pawlik TM. Liver-directed therapy for hepatic metastases in patients undergoing pancreaticoduodenectomy: a dual-center analysis. *Ann Surg* 2010; 252: 142-148 [PMID: 20531007 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181dbb7a7]
 - 12 Mayo SC, de Jong MC, Pulitano C, Clary BM, Reddy SK, Gamblin TC, Celinksi SA, Kooby DA, Staley CA, Stokes JB, Chu CK, Ferrero A, Schulick RD, Choti MA, Mentha G, Strub J, Bauer TW, Adams RB, Aldrighetti L, Capussotti L, Pawlik TM. Surgical management of hepatic neuroendocrine tumor metastasis: results from an international multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3129-3136 [PMID: 20585879 DOI: 10.1245/s10434-010-1154-5]
 - 13 Lehnert T. Liver transplantation for metastatic neuroendocrine carcinoma: an analysis of 103 patients. *Transplantation* 1998; 66: 1307-1312 [PMID: 9846513]
 - 14 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 胰腺内分泌肿瘤的诊治和外科治疗指南(讨论稿). *中华外科杂志* 2009; 47: 339-341
 - 15 李晓光, 金征宇, 潘杰, 张晓波, 石海峰, 孙昊, 王志伟, 周康. 肝动脉化疗或栓塞治疗胰腺神经内分泌肿瘤肝转移的疗效分析. *介入放射学杂志* 2010; 442-446
 - 16 Ahlman H, Wängberg B, Jansson S, Friman S, Olausson M, Tylén U, Nilsson O. Interventional treatment of gastrointestinal neuroendocrine tumours. *Digestion* 2000; 62 Suppl 1: 59-68 [PMID: 10940689]
 - 17 Mazzaglia PJ, Berber E, Milas M, Siperstein AE. Laparoscopic radiofrequency ablation of neuroendocrine liver metastases: a 10-year experience evaluating predictors of survival. *Surgery* 2007; 142: 10-19 [PMID: 17629995 DOI: 10.1016/j.surg.2007.01.036]
 - 18 Elias D, Baton O, Sideris L, Boige V, Malka D, Liberale G, Pocard M, Lasser P. Hepatectomy plus intraoperative radiofrequency ablation and chemotherapy to treat technically unresectable multiple colorectal liver metastases. *J Surg Oncol* 2005; 90: 36-42 [PMID: 15786433 DOI: 10.1002/jso.20237]
 - 19 Demirkan BH, Eriksson B. Systemic treatment of neuroendocrine tumors with hepatic metastases. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 427-437 [PMID: 23161287]
 - 20 Appetecchia M, Baldelli R. Somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours, current aspects and new perspectives. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 19 [PMID: 20196864 DOI: 10.1186/1756-9966-29-19]
 - 21 Oberg K, Kvols L, Caplin M, Delle Fave G, de Herder W, Rindi G, Ruzsniwski P, Woltering EA, Wiedenmann B. Consensus report on the use of somatostatin analogs for the management of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system. *Ann Oncol* 2004; 15: 966-973 [PMID: 15151956 DOI: 10.1093/annonc/mdh216]
 - 22 Chua YJ, Michael M, Zalcberg JR, Hicks RJ, Goldstein D, Liauw W, Price T. Antitumor effect of somatostatin analogs in neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 2010; 28: e41-e42; author reply e41-e42 [PMID: 20008618 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.8510]
 - 23 Ferone D, Saveanu A, Culler MD, Arvigo M, Rebora A, Gatto F, Minuto F, Jaquet P. Novel chimeric somatostatin analogs: facts and perspectives. *Eur J Endocrinol* 2007; 156 Suppl 1: S23-S28 [PMID: 17413184 DOI: 10.1530/eje.1.02356]
 - 24 Zhang J, Jia Z, Li Q, Wang L, Rashid A, Zhu Z, Evans DB, Vauthey JN, Xie K, Yao JC. Elevated expression of vascular endothelial growth factor correlates with increased angiogenesis and decreased progression-free survival among patients with low-grade neuroendocrine tumors. *Cancer* 2007; 109: 1478-1486 [PMID: 17340592 DOI: 10.1002/cncr.22554]
 - 25 Kulke MH, Chan JA, Meyerhardt JA, Zhu AX, Abrams TA, Blaszkowsky LS, Regan E, Sidor C, Fuchs CS. A prospective phase II study of 2-methoxyestradiol administered in combination with bevacizumab in patients with metastatic carcinoid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 293-300 [PMID: 20960192 DOI: 10.1007/s00280-010-1478-7]
 - 26 Raymond E, Dahan L, Raoul JL, Bang YJ, Borbath I, Lombard-Bohas C, Valle J, Metrakos P, Smith D, Vinik A, Chen JS, Hörsch D, Hammel P, Wiedenmann B, Van Cutsem E, Patyna S, Lu DR, Blanckmeister C, Chao R, Ruzsniwski P. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-513 [PMID: 21306237 DOI: 10.1056/NEJMoa1003825]
 - 27 Raut CP, Kulke MH. Targeted therapy in advanced well-differentiated neuroendocrine tumors. *Oncologist* 2011; 16: 286-295 [PMID: 21346024 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-0313]
 - 28 Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoosen S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-523 [PMID: 21306238 DOI: 10.1056/NEJMoa1009290]
 - 29 Fjallskog ML, Janson ET, Falkmer UG, Vatn MH, Öberg KE, Eriksson BK. Treatment with combined streptozotocin and liposomal doxorubicin in metastatic endocrine pancreatic tumors. *Neuroendocrinology* 2008; 88: 53-58 [PMID: 18285678 DOI: 10.1159/000117575]
 - 30 梁后杰, 杨晨. 胃肠胰腺神经内分泌肿瘤治疗共识(NCCN、ENETs、NANETs)解读. *临床肿瘤学杂志* 2011; 16: 1039-1043

编辑 田滢 电编 闫晋利



二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制

梁凤, 王昌成, 费素娟

梁凤, 徐州医学院 江苏省徐州市 221000

梁凤, 王昌成, 徐州医学院附属淮安医院消化科 江苏省淮安市 223002

费素娟, 徐州医学院附属医院消化科 江苏省徐州市 221000

梁凤, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的临床与病理研究。

作者贡献分布: 梁凤、王昌成及费素娟对本文所作贡献均等; 此课题由王昌成与费素娟设计; 研究过程由梁凤操作完成; 数据分析由梁凤完成; 本论文写作由梁凤与王昌成完成。

通讯作者: 王昌成, 教授, 主任医师, 223002, 江苏省淮安市淮海南路62号, 徐州医学院附属淮安医院消化科。

changchengwang1964@126.com

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109

Feng Liang, Chang-Cheng Wang, Su-Juan Fei

Feng Liang, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China

Feng Liang, Chang-Cheng Wang, Department of Gastroenterology, Huaian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical College, Huaian 223002, Jiangsu Province, China

Su-Juan Fei, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Chang-Cheng Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huaian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical College, Huaihai South Road, Huaian 223002, Jiangsu Province, China. changchengwang1964@126.com

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effects of metformin on cell proliferation, apoptosis and cell cycle progression in human esophageal cancer cell line Eca109 *in vitro*, to explore the possible mechanisms, and to observe whether there is a synergistic effect between metformin and 5-fluorouracil (5-FU).

METHODS: MTT assay was used to detect cell inhibition rate after treatment with metformin alone or in combination with 5-FU. Morphological changes of cells were observed by

Hoechst33258 staining. The changes in cell cycle progression were examined by flow cytometry (FCM). The expression of p27 and cyclin D1 mRNAs in Eca109 cells was detected by reverse transcription-PCR.

RESULTS: Apoptotic features including nuclear pyknosis, chromatin margination and apoptotic bodies were observed in Eca109 cells after treatment with metformin by inverted phase contrast microscopy and Hoechst33258 staining. Metformin significantly inhibited the proliferation of Eca109 cells in a dose- ($r = 0.968$, $P < 0.05$) and time-dependent ($r = 0.914$, $P < 0.05$) manner. Metformin treatment enhanced 5-Fu-mediated cell growth inhibition (24 h: $t = 6.943$, $P < 0.05$; 48 h: $t = 7.764$, $P < 0.05$; 72 h: $t = 14.554$, $P < 0.05$ vs metformin alone). However, metformin and 5-FU had no synergistic anti-proliferative effect in esophageal cells. Flow cytometry analysis showed that metformin increased the percentage of cells in G_0/G_1 phase in a dose-dependent manner. The expression of cyclin D1 mRNA was down-regulated, while the expression of p27 mRNA was up-regulated after metformin treatment.

CONCLUSION: Metformin inhibits cell proliferation, promotes apoptosis and blocks the cell cycle at G_0/G_1 phase, which may be attributable to down-regulation of cyclin D1 and up-regulation of p27. Metformin and 5-FU have no synergistic anti-proliferative effect in Eca109 cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Metformin; 5-fluorouracil; Eca109; Synergistic; Cell cycle; Inhibition rate

Liang F, Wang CC, Fei SJ. Effects of metformin on cell proliferation and apoptosis in human esophageal squamous cancer cell line Eca109. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4075-4083 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4075>

■背景资料

食管癌因患者有临床表现而就医时, 均已处于中晚期, 大部分失去了手术的机会, 而此时化疗成为食管癌重要治疗手段之一。因此, 寻找高效低毒的化疗药物或联合用药减轻不良反应成为抗癌研究的热点问题之一。二甲双胍抗肿瘤效应的研究日趋增多, 但在食管癌方面国内外鲜见报道。

■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

■ 研发前沿

近年来,临床上安全性较高、不良反应较少且价廉的“老药”,逐渐被“新用”。其中二甲双胍作为LKB1-AMPK激活剂,其在抗肿瘤方面的作用及相关的抗肿瘤机制逐渐成为抗肿瘤药物研究的热点。

摘要

目的: 研究二甲双胍对人食管鳞状细胞癌Eca109细胞的增殖、凋亡的影响及其机制。

方法: 倒置相差显微镜观察二甲双胍作用于Eca109细胞后细胞形态学的改变;二甲双胍或二甲双胍联合5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)干预细胞24、48、72 h后,MTT检测细胞抑制率;Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化;药物干预后,流式细胞仪检测细胞周期的改变,抽提mRNA并以RT-PCR(reverse transcription PCR)检测相关基因*cyclinD1*、*p27*的转录情况。

结果: 二甲双胍处理后倒置相差显微镜观察其大体形态和荧光显微镜观察其细胞核均呈现凋亡的形态学变化;MTT结果显示,不同浓度二甲双胍作用于食管癌Eca109细胞后,相关分析结果显示,食管癌Eca109细胞生长抑制率与二甲双胍浓度呈正相关($r = 0.968$, $P < 0.05$),与作用时间呈正相关($r = 0.914$, $P < 0.05$);与5-FU联合使用时(联合用药组24 h: $t = 6.943$, $P < 0.05$, 48 h: $t = 7.764$, $P < 0.05$, 72 h: $t = 14.554$, $P < 0.05$ vs 单用二甲双胍组),但根据金正均法判断,三组的 q 值0.85-1.15,表示两药有单纯相加作用,并无协同作用;流式测细胞周期结果显示,二甲双胍阻滞细胞于 G_0/G_1 期细胞;RT-PCR结果显示周期相关基因*cyclinD1* mRNA显著下调($P < 0.05$),*p27* mRNA显著上调($P < 0.05$)。

结论: 二甲双胍能促进人食管癌细胞系Eca109的凋亡,与5-FU联合用药时无明显协同作用,阻滞细胞周期于 G_0/G_1 期,其机制可能与上调或下调某些细胞周期相关基因的表达有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 二甲双胍; 5-氟尿嘧啶; Eca109细胞; 协同作用; 细胞周期; 抑制率

核心提示: 研究结果表明安全且价廉的口服降糖药二甲双胍能抑制食管癌细胞系Eca109细胞的增殖,促进肿瘤细胞凋亡,并使细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期,这些可能与下调细胞周期素相关蛋白D1及上调调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因*p27*有关。

梁凤, 王昌成, 费素娟. 二甲双胍对人食管癌Eca109细胞的增殖与凋亡的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4075-4083 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4075>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4075>

0 引言

食管癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,近年来有发病率增加和日趋年轻化倾向。因患者有临床表现而就医时,均已处于中晚期,大部分失去了手术的机会,而此时化疗成为食管癌重要治疗手段之一。但目前所用的化疗药物大多不良反应大,且容易产生抗药性。因此,寻找高效低毒的化疗药物或联合用药减轻不良反应成为抗癌研究的热点问题之一。二甲双胍是在上世纪50年代被引入用来治疗2型糖尿病的双胍类口服降糖药^[1]。2005年,Evans等^[2]发表了一项对983例2型糖尿病患者和1846例对照人群使用二甲双胍情况的回顾性临床对照研究,结果表明二甲双胍能显著降低糖尿病者的肿瘤风险(校正后的相对危险度RR = 0.79, 95%CI: 0.67-0.93)。这些研究引发随后关于二甲双胍抗肿瘤效应的研究日趋增多。本实验的目的是研究二甲双胍对人高分化食管鳞状癌细胞系Eca109细胞的增殖、凋亡及对细胞周期的影响,及其与化疗药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)联合使用时是否有协同作用,并初步探讨可能机制,为进一步的临床用药提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人高分化食管鳞状癌细胞系Eca109购自中国科学院上海细胞库并由徐州医学院中心实验室保存;DMEM培养液购自GIBCO公司;青霉素-链霉素溶液胰酶购自VICMED公司;胎牛血清购自杭州四季青;二甲双胍、5-FU均购自Sigma公司;细胞周期试剂盒购自南京凯基;TRIzol试剂、逆转录试剂盒、PCR试剂盒购自TIANGEN科技有限公司;PCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成;酶联免疫检测仪为Thermo公司产品;流式细胞仪为BD公司产品;DP11显微照相系统购自日本Olympus公司;凝胶成像系统为Bio-Rad公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人食管癌系Eca-109细胞常规培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 ng/mL链霉素的DMEM培养基中,培养条件为37℃、5%CO₂的湿润无菌环境。0.25%的胰蛋白酶消化,1-2 d换液,3-4 d传代1次。

1.2.2 细胞形态观察: Olympus倒置显微镜下观察培养瓶内细胞正常状态下的生长、形态及加入二甲双胍后不同时间的形态变化情况,并摄影记录。

表 1 PCR引物列表

基因	上下游序列(5'-3')	产物长度(bp)	退火温度(°C)
<i>cyclinD1</i>	上游: CTCGCCAGTCCATTTGAT	314	64
	下游: GGGCTCCCCTTAGACACT		
<i>p27</i>	上游: TCTACACCGACAACCTCCATCC	202	60
	下游: TGTGAGGCGGTAGTAGGACAG		

1.2.3 MTT法细胞抑制率测定: 取对数生长期的Eca109细胞, 以 $1 \times 10^3/\text{mL}$ 的密度接种于96孔板, 每孔200 μL , 待贴壁24 h后, 吸除培养基, 置换成含药培养基, 设8个组, 分别为对照组(含细胞不含药的培养基), 二甲双胍(Met)组(1、5、10、20、40 mmol/L), 5-FU组(25 mg/L), 联合组(Met 20 mmol/L+5-FU 25 mg/L), 每组6个复孔, 共3块板, 分别继续培养24、48、72 h. 实验重复3次, 上机检测前, 在各孔中加入5 mg/L MTT 20 μL , 继续培养4 h后弃上清, 每孔加入DMSO 150 μL , 震荡10 min待结晶溶解后, 在酶联免疫检测仪570 nm波长处测定各孔的吸光度(A)值, 以周边一圈不加细胞的全PBS孔作为调零孔. 按下列公式计算细胞增殖的抑制率: 抑制率(%) = $(1 - A_{\text{实验组/对照组}}) \times 100\%$, 实验重复3次, 结果以均数 \pm 标准差的形式表示, 在比较两药联合使用是否有协同作用时, 采用金正均法判断, 公式: $q = (Ea + b) / [(Ea + Eb) - Ea \times Eb]$. 公式中Ea为二甲双胍组的抑制率, Eb为5-FU组的抑制率, Ea + b为联合用药组的抑制率. 结果 q 值 >1.15 表示两药有协同作用, q 值 <0.85 表示两药有拮抗作用, q 值为0.85-1.15表示两药有单纯相加作用.

1.2.4 Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化: 将细胞接种于6孔板, 常规培养24 h贴壁后, 弃上清, 换成含药培养基, 分3组, 分别为对照组, 二甲双胍组(1、5 mmol/L)每组设3个复孔, 重复3板, 分别培养24 h后, 吸尽培养液, 加入0.5 mL 40 g/L的多聚甲醛液固定细胞10 min; 去固定液, 用0.01 mol/L的PBS洗3 min \times 2次, 洗涤时用手轻轻晃动, 吸尽液体; 加入1 mL Hoechst 33258染色液, 37 °C染色15 min; 去染色液, 用PBS洗2 min \times 2次, 以去除过多的染色背景; 荧光显微镜下观察, 激发波长为350 nm, 发射波长为460 nm, 细胞核呈致密浓染或呈碎块状致密浓染为凋亡阳性细胞; 拍照保存. 凋亡指数(apoptosis index, AI)(%) = 凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$.

1.2.5 流式细胞仪测细胞周期: 取对数生长期细胞, 接种于六孔板中, 每组设3个复孔, 收集对照

组及不同浓度二甲双胍组(5、10、20 mmol/L)处理48 h后的细胞, PBS洗涤细胞2次, 用70%预冷乙醇固定至少过夜, 染色前加入PBS洗涤固定液, 用400目的细胞筛过滤细胞至流式管中, 加入100 μL RNase A, 37 °C水浴30 min; 再加入400 μL PI染色混匀, 4 °C避光30 min. 上机检测, 记录激发波长488 nm处红色荧光, 结果用Flowjo软件分析.

1.2.6 RT-PCR法检测相关基因表达: 不同浓度二甲双胍(5、10、20 mmol/L)作用48 h, 同时以不加任何药物的细胞作为对照组, TRIzol法提取细胞总RNA, 逆转录成cDNA, 以GAPDH作为内参, 行RT-PCR反应. PCR引物(表1), 反应体系: 94 °C 3 min; 94 °C 30 s, (退火温度)60 s, 72 °C 60 s; 72 °C 10 min共35个循环, 实验重复3次. 以imageJ计算灰度值, 对各条带灰度值与内参条带灰度值的比值进行分析.

统计学处理 实验数据用mean \pm SD表示, 应用SPSS13.0统计软件, 多组比较进行单因素方差分析, 两两比较进行 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞形态学观察 对照组细胞: 生长旺盛, 贴壁生长, 形态饱满, 境界清晰, 核膜、核仁轮廓明显, 细胞间结构紧密. 二甲双胍处理后细胞呈现凋亡的形态学变化: 可见大部分细胞变圆, 体积缩小, 形态不规则, 结构变松散, 部分细胞表面发芽, 部分脱落漂浮, 少数细胞体积增大、破裂, 呈坏死状, 细胞周围碎片增多, 且随着药物浓度的增加及作用时间的延长, 这种变化更加明显.

2.2 二甲双胍能抑制食管癌Eca109细胞增殖 MTT结果显示, 不同浓度二甲双胍作用于食管癌Eca109细胞后, 除1 mmol/L作用24、48 h后, 其抑制率与对照组相比, 差异无统计学意义, 余组抑制率与对照组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 其中24 h组的20和40 mmol/L浓度组,

■ 相关报道

*cyclinD1*是细胞周期的调控基因, 若此基因失控, 可致细胞发生异常增生, 过表达与肿瘤发生有关. 另外, *p27*基因是近年来发现的一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因, 其表达下降可降低他对正性细胞周期调控蛋白的抑制效应, 导致细胞增殖过度乃至肿瘤形成.

■创新盘点

本研究以“老药新用”为切入点,将广泛使用的口服降糖药二甲双胍应用于食管鳞状细胞癌细胞,采用多数成熟的技术观察其抗肿瘤效应,并探讨其与常用化疗药5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)的联合用药效果,有望为食管癌的新辅助化疗提供新的思路。

表 2 二甲双胍与5-氟尿嘧啶联合使用的抑制率与各药单用时的抑制率的比较(mean ± SD, %)

分组	24 h	48 h	72 h
M(20)	23.08 ± 1.18	51.09 ± 1.21	64.71 ± 1.27
F(25)	12.17 ± 2.34	31.34 ± 1.02	57.94 ± 2.03
M(20)+F(25)	36.12 ± 4.14 ^{ac}	67.32 ± 2.01 ^{ac}	82.10 ± 3.21 ^{ac}

M(20): metformin 20 mmol/L; F(25): 5-氟尿嘧啶 25 mg/L. ^a $P < 0.05$ vs M(20); ^c $P < 0.01$ vs F(25).

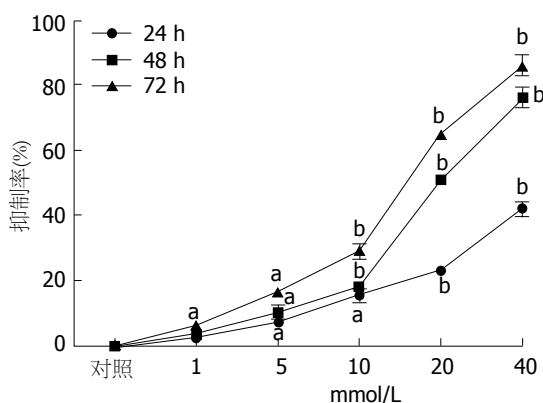


图 1 不同浓度二甲双胍对食管癌细胞Eca109的抑制情况。^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

48和72 h组的10、20和40 mmol/L浓度组和对照组相比,差异显著($P < 0.01$),相关分析结果显示,食管癌Eca109细胞生长抑制率与二甲双胍浓度呈正相关($r = 0.968$, $P < 0.05$),说明二甲双胍能有效抑制人食管癌Eca109细胞的增殖,且呈剂量依赖性。二甲双胍浓度相同时,食管癌Eca109细胞生长抑制率随着作用时间的延长而逐渐上升,72 h组达最高峰,与24、48 h组相比,均有显著差异,相关分析结果显示,其细胞生长抑制率与时间呈正相关($r = 0.914$, $P < 0.05$)(图1)。

2.3 二甲双胍和5-FU联合使用 二甲双胍组和5-FU组(表2),与对照组相比,均明显抑制细胞生长且差异有统计学意义(联合用药组24 h: $t = 6.943$, $P < 0.05$; 48 h: $t = 7.764$, $P < 0.05$; 72 h: $t = 14.554$, $P < 0.05$ vs 单用二甲双胍组; 联合用药组24 h: $t = 16.02$, $P < 0.01$; 48 h: $t = 13.21$, $P < 0.01$; 72 h: $t = 24.21$, $P < 0.01$ vs 单用5-FU组),但根据金正均法判断,三组的 q 值为0.85-1.15,表示两药有单纯相加作用,并无协同作用。

2.4 Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化 在荧光显微镜下,阴性对照组细胞数较多,凋亡细胞少,细胞核呈弥散、均匀蓝色荧光;二甲双胍处理组1、5 mmol/L可见细胞总数减少,凋亡细胞形态变小,细胞核或细胞质内可见浓染致密的碎块状蓝色荧光,有明显的

核固缩和染色质边集等变化,随着药物浓度的增加,细胞总数逐渐减少,凋亡阳性细胞数逐渐增多,AI逐渐升高,差异有显著统计学意义($F = 57.34$, 1 mmol/L组 $P < 0.05$ vs 对照, 5 mmol/L组 $P < 0.01$ vs 对照组)(图2)。

2.5 二甲双胍对细胞周期分布的影响 不同浓度的二甲双胍干预Eca109细胞48 h后,行流式细胞术检测发现, 5 mmol/L组 G_0/G_1 期所占比重显著高于对照组($P < 0.01$), S期所占比重显著低于对照组($P < 0.01$), G_2/M 期所占比重低于对照组($P < 0.05$); 10 mmol/L组和20 mmol/L组 G_0/G_1 期所占比重显著高于对照组($P < 0.01$), S期及 G_2/M 期所占比重显著低于对照组($P < 0.01$)(图3)。

2.6 二甲双胍影响cyclinD1、p27基因转录 半定量PCR结果显示(图4),不同浓度二甲双胍作用48 h后,与对照组相比, p27 mRNA的表达升高, cyclinD1 mRNA的表达降低, 5 mmol/L的二甲双胍作用后cyclinD1 mRNA与内参mRNA的灰度值的比值与对照组相比,其差异有统计学意义($P < 0.05$),余各浓度组的目的基因与内参mRNA的灰度值比值与对照组相比,其差异均有显著的统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

本研究中我们发现,从大体来看,二甲双胍处理后细胞呈现凋亡的形态学变化且随着药物浓度的增加及作用时间的延长,这种变化更加明显,特别是从Hoechst33258荧光染色法观察凋亡细胞核的形态学变化中更加显著;通过MTT结果一方面发现二甲双胍能抑制食管癌Eca109细胞增殖;另一方面二甲双胍和5-FU联合使用并无协同作用;从二甲双胍对细胞周期分布的影响结果来看,二甲双胍有促使细胞周期停滞的趋势,从其基因转录水平来看,可能与cyclinD1及p27 mRNA的表达降低和升高有一定的关系。

二甲双胍,属于口服的双胍类降糖药的一种,不良反应主要是乳酸中毒,但是发生率极低,另外一些不良反应主要包括胃肠道反应,如

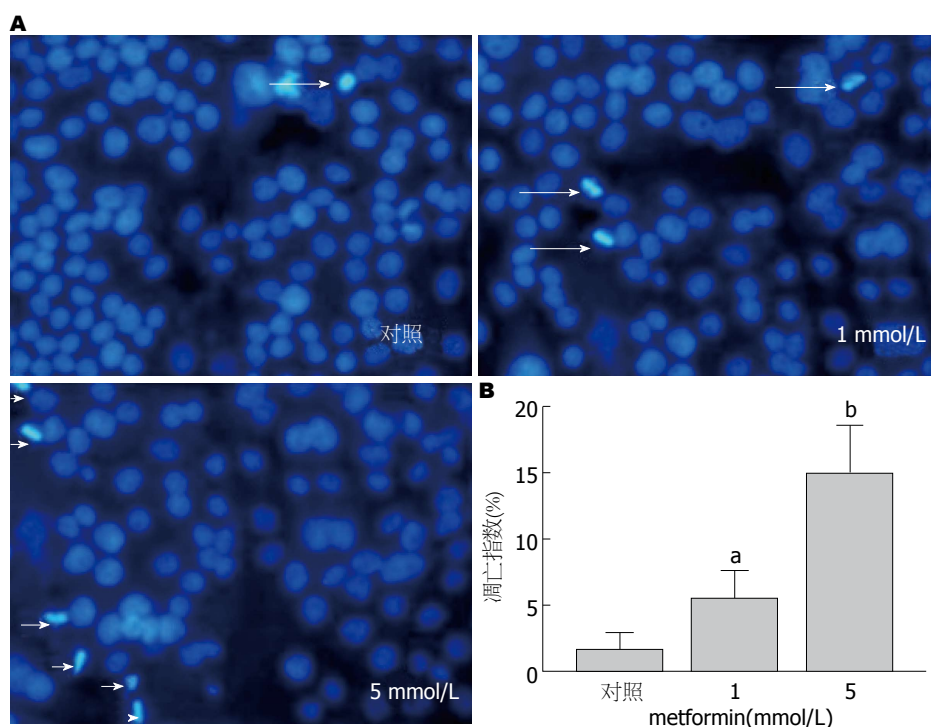


图2 Hoechst33258荧光染色法. A: 不同浓度二甲双胍作用24 h对凋亡细胞核的形态学变化($\times 200$); B: 不同浓度二甲双胍对食管癌细胞的凋亡指数AI(%)的影响. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

应用要点

本研究发现食管癌细胞经二甲双胍作用后, 细胞的增殖受到了明显的抑制, 凋亡增加, 细胞周期停滞, 在与食管癌化疗常用的5-FU联合作用后, 并无明显的协同作用, 但有相加作用, 说明二甲双胍和5-FU合用时, 可以一定程度上减少5-FU的用量, 从而减少化疗药物的不良反应.

腹泻、腹胀、恶心呕吐, 而这些不良反应可以通过缓慢增加剂量直至治疗量来避免^[3]. 因此该药能被绝大多数糖尿病患者所接受. 二甲双胍作为肝激酶B1-AMP激酶(LKB1-AMPK)激活剂, 能抑制多种肿瘤增殖并促进其凋亡, 其抗肿瘤作用已经得到了许多实验室资料的验证, 当然也包括许多大型的可靠的回顾性研究及病例对照研究^[4-6].

Jiralerspong等^[7]发现二甲双胍能提高糖尿病患者乳腺癌对新辅助化疗的反应性, 但关于其是否可提高消化系肿瘤对化疗药物反应的研究尚较少. 本实验中, 二甲双胍与食管癌化疗常用的5-FU联合作用后, 并无明显的协同作用, 但有相加作用, 说明二甲双胍和5-FU合用时, 可以一定程度上减少5-FU的用量, 从而减少化疗药物的不良反应. Matsuzaki等^[8]的研究发现mTOR抑制剂与5-FU对胃癌细胞的治疗具有协同作用, 但对非硬癌细胞, 如MKN45细胞无此协同作用. 另外, 薛知新等^[9]的研究发现二甲双胍与5-FU联合使用对于AGS胃癌细胞的生长增殖具有协同抑制作用. Eca109细胞从建系资料来看, 属于高分化人食管癌鳞状细胞癌, 二甲双胍和5-FU联合作用于人食管癌Eca109细胞无协同效应, 可能与食管癌的种类及分化程度有关.

细胞周期与肿瘤的关系一直都是各大实验

室的研究热点. 细胞周期分为: 合成DNA的时期称为DNA合成期(S期), 进行DNA拷贝分配和细胞分裂的时期称为有丝分裂期(M期), 在M期结束后和S期开始前的一段间隙称为G₁期, 而在S期结束后和M期开始前的间隙则称为G₂期, 合成前期又称G₀期. 其中G₁/S和G₂/M期的转换是两个重要的合成转换点. 在细胞周期的一系列调节因子中, 只有G₁期的调节因子被发现在肿瘤的发生中出现改变或突变, 从而导致细胞增殖的不可控性^[10]. CyclinD1是细胞周期循环控制中起重要作用的蛋白, 特别是细胞从G₁至S期, 为细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)所调控. *cyclinD1*是细胞周期的调控基因, 若此基因失控, 可致细胞发生异常增生, 过表达是导致癌变的一个主要的原因, 过表达与肿瘤发生有关. Bahnassy等^[11]发现周期蛋白D1过表达与肿瘤组织学类型、分化程度、淋巴转移状况密切相关, 周期蛋白D1过表达预后较差. 另外, *p27*基因是近年来发现的一个调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因, 其编码的P27蛋白为周期素依赖性蛋白激酶抑制因子, 对细胞周期具有负调控作用. 他是调节细胞进入S期所必需的细胞周期激酶, 可阻止包括Rb(控制细胞周期的一个抑癌基因)在内的启动S期所必需的关键靶分子磷酸化, 抑制G₁相关CYC-CDK

同行评价

本文设计思路清楚,方法比较合理,具有一定指导意义。

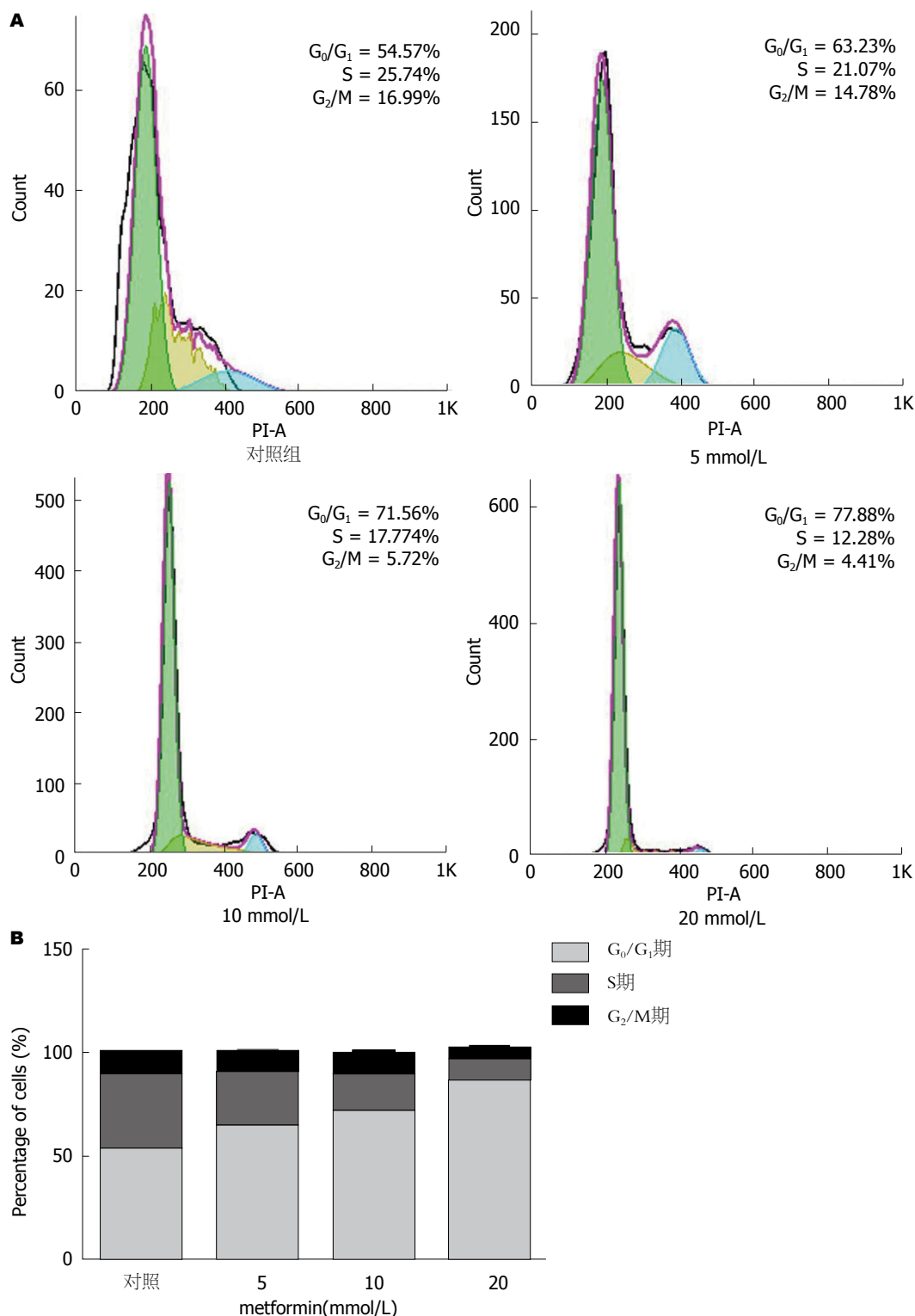


图3 流式细胞仪检测细胞周期。A: 细胞周期检测结果; B: 二甲双胍作用后细胞各周期比例的变化情况。

复合物及CYCB-CDC2复合物,其过表达可诱导细胞发生 G_1/S 期阻滞^[12,13]。P27在调控细胞周期进展中具有十分重要的作用,其表达下降可降低他对正性细胞周期调控蛋白的抑制效应,导致细胞增殖过度乃至肿瘤形成^[14]。Penin等^[15]用腺病毒将P27蛋白基因转染到星形细胞瘤细胞

系,高表达者CDK活性明显受到抑制,细胞阻滞于 G_1 期,另外还观察到非整倍体细胞比例明显下降,提示P27蛋白具有抑制肿瘤发生发展的作用。CyclinD1/CDK复合物的功能之一是连接或隔离P27,从而防止P27阻断CyclinD1/CDK复合物的形成,使 G_0/G_1 期可以顺利进入S期。本研究

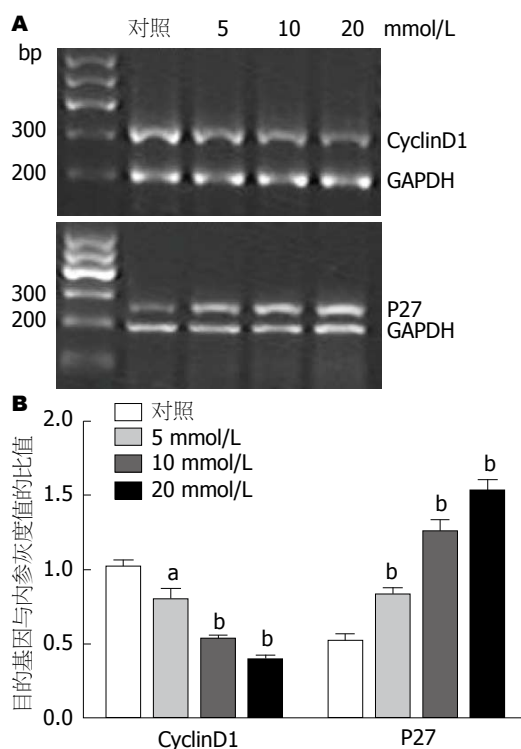


图 4 RT-PCR检测相关基因表达情况. A: RT-PCR检测结果; B: *cyclinD1*、*p27*基因表达情况. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

中发现, 二甲双胍干预食管癌细胞后, 从流式细胞仪的检测结果来看, 细胞的 G_0/G_1 期细胞比例显著升高($P < 0.05$), 而S期及 G_2/M 期细胞所占比例则相应下降, 从而阻滞细胞周期进程的发展, 抑制肿瘤细胞的增殖. 这与Zhuang及Ben Sahra等^[16,17]对二甲双胍抗肿瘤的作用机制的研究相一致. 从RT-PCR结果来看, *cyclinD1*的mRNA的表达量下降, 而*p27* mRNA的表达量升高, 这可能与二甲双胍抗肿瘤作用的机制有关, 这与Kobayashi、Zhao及Luo等^[18-20]的研究相一致.

近年来, 围绕二甲双胍的抗肿瘤作用, 已经开展很多研究, 并取得一定的成果, 除了上述的调控细胞周期诱导细胞凋亡外, 他抑制肿瘤细胞的代谢并且抑制肿瘤细胞内线粒体复合物 I (mitochondrial complex I) 的活性^[21,22]. 有争议的是二甲双胍的抗肿瘤效应到底是否与其调节血糖及血胰岛素水平的一系列反应有关呢? 众所周知, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是一类多功能细胞增殖调控因子, 在细胞的分化、增殖、个体的生长发育中具有重要的促进作用, 是推进肿瘤发生发展的重要因素^[23-25]. 肿瘤细胞可表达有丝裂原作用的胰岛素受体和IGF受体, 胰岛素可降低IGF结合蛋白水平, 并升高IGF-1水平, 也可能结合或活化肿瘤细

胞的IGF-1受体. 因此推测, 胰岛素及胰岛素类似物可能有促肿瘤发生的作用. 二甲双胍作为胰岛素增敏剂, 在降低血糖的同时可改善胰岛素敏感性, 从而减少胰岛素用量, 缓解高胰岛素血症. 但在临床研究中, 即使在校正了胰岛素剂量之后二甲双胍的保护作用仍显著, 表明二甲双胍的抗肿瘤作用不能完全用胰岛素节约效应来解释. 一些临床前研究发现, 在不同的老鼠模型中, 肿瘤生长的减缓和血胰岛素水平的降低是密切相关的^[26,27], 在这些研究中, 二甲双胍抗肿瘤的机制被归纳为降低循环中胰岛素及IGF-1的水平. Memmott等^[28]最近的一项研究提出一个全新且有趣的观点, 认为二甲双胍抗肿瘤的机制是通过诱导4-(N-甲基-N-亚硝胺)-1-(3-吡啶基)-丁酮[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone], 即NNK[其是烟草特有亚硝胺(tobacco-specific nitrosamines, TSNA)中具有强致癌性物质之一]而完成的, 最终能够导致DNA损伤. 研究发现二甲双胍通过二乙基亚硝胺诱导肝脂肪生成的减少, 进而显著减少肝癌的发生发展^[29]. 一些研究也提示二甲双胍拥有抗氧化特性^[30], 并且有体内外实验可以证明二甲双胍可以避免晚期糖基化终末产物AGEs的形成^[31].

目前的一些临床研究正在探索二甲双胍与传统化疗以及靶向治疗的联合治疗效应. 许多研究支持二甲双胍在恶性肿瘤的化学治疗中起到了一个重要的作用, 但是, 截然不同的设计, 回顾性的分析以及各种混杂因素影响我们得出一个明确的结论. 当前更需要的是一些关于二甲双胍剂量梯度结合联合疗法与胰岛素和其他降低血糖药物的前瞻性试验. 二甲双胍的抗癌作用是其中一个值得深入研究的新方向. 存在的主要问题是, 二甲双胍作为口服降糖药, 其在人体最高用量的血药浓度为10 mmol/L, 远远低于我们的实验浓度, 虽然在体外实验中我们需要排除培养基中的葡萄糖的含量及胎牛血清的影响, 但人体对于高浓度的二甲双胍是否具有良好的耐受性还需要大量的研究证实.

总之, 我们的研究表明二甲双胍能抑制食管癌细胞系Eca109细胞的增殖, 促进肿瘤细胞凋亡, 并使细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期, 这些可能与下调细胞周期素相关蛋白D1及上调调控细胞周期并抑制细胞分裂的重要抑癌基因*p27*有关.

志谢: 感谢徐州医学院中心实验室的刘福明及刘小云老师在本试验中给予的大力帮助.

4 参考文献

- 1 Witters LA. The blooming of the French lilac. *J Clin Invest* 2001; 108: 1105-1107 [PMID: 11602616 DOI: 10.1172/JCI14178]
- 2 Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005; 330: 1304-1305 [PMID: 15849206 DOI: 10.1136/bmj.38415.708634.F7]
- 3 Laforest C, Saint-Marcoux F, Amiel JB, Pichon N, Merle L. Monitoring of metformin-induced lactic acidosis in a diabetic patient with acute kidney failure and effect of hemodialysis. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 51: 147-151 [PMID: 23149294 DOI: 10.5414/CP201728]
- 4 Hadad S, Iwamoto T, Jordan L, Purdie C, Bray S, Baker L, Jellema G, Deharo S, Hardie DG, Pusztai L, Moulder-Thompson S, Dewar JA, Thompson AM. Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128: 783-794 [PMID: 21655990 DOI: 10.1007/s10549-011-1612-1]
- 5 Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, Suzuki K, Iida H, Sakamoto Y, Yoneda K, Koide T, Tokoro C, Abe Y, Inamori M, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010; 3: 1077-1083 [PMID: 20810669 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0186]
- 6 Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Uchiyama T, Suzuki K, Nozaki Y, Yoneda K, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Tomatsu A, Chihara T, Shimpo K, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci by activating AMP-activated protein kinase. *Mol Carcinog* 2010; 49: 662-671 [PMID: 20564343 DOI: 10.1002/mc.20637]
- 7 Jiralerspong S, Gonzalez-Angulo AM, Hung MC. Expanding the arsenal: metformin for the treatment of triple-negative breast cancer? *Cell Cycle* 2009; 8: 2681 [PMID: 19717981]
- 8 Matsuzaki T, Yashiro M, Kaizaki R, Yasuda K, Doi Y, Sawada T, Ohira M, Hirakawa K. Synergistic anti-proliferative effect of mTOR inhibitors in combination with 5-fluorouracil in scirrhous gastric cancer. *Cancer Sci* 2009; 100: 2402-2410 [PMID: 19764996 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01315.x]
- 9 薛知新, 钟捷, 赵丹瑜, 许慈, 孙萍胡, 姚静静. 二甲双胍对AGS胃癌细胞生长侵袭的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1974-1978
- 10 Camidge DR. Cell cycle-associated kinases as targets for therapy in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010; 5: S461-S462 [PMID: 21102239 DOI: 10.1097/01.JTO.0000391366.63882.30]
- 11 Bahnassy AA, Zekri AR, Alam El-Din HM, Aboubakr AA, Kamel K, El-Sabah MT, Mokhtar NM. The role of cyclins and cyclins inhibitors in the multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2006; 18: 292-302 [PMID: 18301453]
- 12 Yadav V, Sultana S, Yadav J, Saini N. Gatifloxacin induces S and G2-phase cell cycle arrest in pancreatic cancer cells via p21/p27/p53. *PLoS One* 2012; 7: e47796 [PMID: 23133524 DOI: 10.1371/journal.pone.0047796]
- 13 Yoon MK, Mitrea DM, Ou L, Kriwacki RW. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins p21 and p27. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 981-988 [PMID: 22988851 DOI: 10.1042/BST20120092]
- 14 Belletti B, Baldassarre G. New light on p27(kip1) in breast cancer. *Cell Cycle* 2012; 11: 3701-3702 [PMID: 22895010 DOI: 10.4161/cc.21573]
- 15 Penin RM, Fernandez-Figueras MT, Puig L, Rex J, Ferrandiz C, Ariza A. Over-expression of p45(SKP2) in Kaposi's sarcoma correlates with higher tumor stage and extracutaneous involvement but is not directly related to p27(KIP1) down-regulation. *Mod Pathol* 2002; 15: 1227-1235 [PMID: 12429803 DOI: 10.1097/01.MP.0000036589.99516.D6]
- 16 Zhuang Y, Miskimins WK. Cell cycle arrest in Metformin treated breast cancer cells involves activation of AMPK, downregulation of cyclinD1, and requires p27Kip1 or p21Cip1. *J Mol Signal* 2008; 3: 18 [PMID: 19046439 DOI: 10.1186/1750-2187-3-18]
- 17 Ben Sahra I, Laurent K, Loubat A, Giorgetti-Peraldi S, Colosetti P, Auberger P, Tanti JF, Le Marchand-Brustel Y, Bost F. The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect in vitro and in vivo through a decrease of cyclinD1 level. *Oncogene* 2008; 27: 3576-3586 [PMID: 18212742 DOI: 10.1038/sj.onc.1211024]
- 18 Kobayashi M, Kato K, Iwama H, Fujihara S, Nishiyama N, Mimura S, Toyota Y, Nomura T, Nomura K, Tani J, Miyoshi H, Kobara H, Mori H, Murao K, Masaki T. Antitumor effect of metformin in esophageal cancer: in vitro study. *Int J Oncol* 2013; 42: 517-524 [PMID: 23229592 DOI: 10.3892/ijo.2012.1722]
- 19 Zhao L, Wen ZH, Jia CH, Li M, Luo SQ, Bai XC. Metformin induces G1 cell cycle arrest and inhibits cell proliferation in nasopharyngeal carcinoma cells. *Anat Rec (Hoboken)* 2011; 294: 1337-1343 [PMID: 21717584 DOI: 10.1002/ar.21283]
- 20 Luo Q, Hu D, Hu S, Yan M, Sun Z, Chen F. In vitro and in vivo anti-tumor effect of metformin as a novel therapeutic agent in human oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2012; 12: 517 [PMID: 23151022 DOI: 10.1186/1471-2407-12-517]
- 21 Ben Sahra I, Laurent K, Giuliano S, Larbret F, Ponzio G, Gounon P, Le Marchand-Brustel Y, Giorgetti-Peraldi S, Cormont M, Bertolotto C, Deckert M, Auberger P, Tanti JF, Bost F. Targeting cancer cell metabolism: the combination of metformin and 2-deoxyglucose induces p53-dependent apoptosis in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2010; 70: 2465-2475 [PMID: 20215500 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2782]
- 22 Svergun DI, Petoukhov MV, Koch MH, König S. Crystal versus solution structures of thiamine diphosphate-dependent enzymes. *J Biol Chem* 2000; 275: 297-302 [PMID: 10617618]
- 23 Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 915-928 [PMID: 19029956 DOI: 10.1038/nrc2536]
- 24 Gallagher EJ, LeRoith D. Minireview: IGF, Insulin, and Cancer. *Endocrinology* 2011; 152: 2546-2551 [PMID: 21540285 DOI: 10.1210/en.2011-0231]
- 25 Capoluongo E. Insulin-like growth factor system and sporadic malignant melanoma. *Am J Pathol* 2011; 178: 26-31 [PMID: 21224039 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.004]
- 26 Algire C, Amrein L, Bazile M, David S, Zakikhani M, Pollak M. Diet and tumor LKB1 expression interact to determine sensitivity to anti-neoplastic effects

- of metformin in vivo. *Oncogene* 2011; 30: 1174-1182 [PMID: 21102522 DOI: 10.1038/onc.2010.483]
- 27 Algire C, Zakikhani M, Blouin MJ, Shuai JH, Pollak M. Metformin attenuates the stimulatory effect of a high-energy diet on in vivo LLC1 carcinoma growth. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 833-839 [PMID: 18469156 DOI: 10.1677/ERC-08-0038]
- 28 Memmott RM, Mercado JR, Maier CR, Kawabata S, Fox SD, Dennis PA. Metformin prevents tobacco carcinogen--induced lung tumorigenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010; 3: 1066-1076 [PMID: 20810672 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0055]
- 29 Bhalla K, Hwang BJ, Dewi RE, Twaddel W, Golubeva OG, Wong KK, Saxena NK, Biswal S, Girnun GD. Metformin prevents liver tumorigenesis by inhibiting pathways driving hepatic lipogenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012; 5: 544-552 [PMID: 22467080 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0228.]
- 30 Onaran I, Guven GS, Ozdaş SB, Kanigur G, Vehid S. Metformin does not prevent DNA damage in lymphocytes despite its antioxidant properties against cumene hydroperoxide-induced oxidative stress. *Mutat Res* 2006; 611: 1-8 [PMID: 17000131]
- 31 Gómez-Abellán P, Madrid JA, Ordovás JM, Garaulet M. [Chronobiological aspects of obesity and metabolic syndrome]. *Endocrinol Nutr* 2012; 59: 50-61 [PMID: 22100640 DOI: 10.1016/j.endonu.2011.08.002]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因,与胃癌的关系密切。鉴于基层部队军人上消化道疾病发病率较高,希望通过对基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素的调查分析,制订预防措施,减少*H. pylori*感染及上消化道疾病的发生。

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 蒋际城, 中国人民解放军南京军区福州总医院476临床部 福建省福州市 350002

田俊, 韩秋凤, 福建医科大学公共卫生学院流行病及卫生统计学系 福建省福州市 350004

钟青, 陈正娇, 中国人民解放军94620部队卫生队 福建省福州市 350002

刘小健, 中国人民解放军94943部队卫生所 福建省福州市 350019

江汉龙, 副主任医师, 主要从事幽门螺杆菌的基础与临床研究。

南京军区医学科技创新课题基金资助项目, No. 11MA119

作者贡献分布: 此课题由江汉龙、夏学林、田俊及韩秋凤设计; 调查研究过程由陈芳旺、钟青、陈正娇、蒋际城及刘小健操作完成; 数据分析由田俊与韩秋凤完成; 本文写作由江汉龙完成。

通讯作者: 江汉龙, 副主任医师, 350002, 福建省福州市洪山桥, 中国人民解放军南京军区福州总医院476临床部。

jianghl476@sina.com

电话: 0591-88611383

收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-10-27

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Chinese military personnel

Han-Long Jiang, Fang-Wang Chen, Xue-Lin Xia, Jun Tian, Qiu-Feng Han, Qing Zhong, Zheng-Jiao Chen, Ji-Cheng Jiang, Xiao-Jian Liu

Han-Long Jiang, Fang-Wang Chen, Xue-Lin Xia, Ji-Cheng Jiang, 476 Clinical Department, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Jun Tian, Qiu-Feng Han, Department of Epidemiology and Health Statistics, Public Health School, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China

Qing Zhong, Zheng-Jiao Chen, the Chinese People's Liberation Army 94620 Medical Team, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Xiao-Jian Liu, the Chinese People's Liberation Army 94943 Army Health Clinic, Fuzhou 350019, Fujian Province, China

Supported by: the Nanjing Military Medical Scientific and Technological Innovation Project, No. 11MA119

Correspondence to: Han-Long Jiang, Associate Chief Physician, 476 Clinical Department Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Hongshanqiao, Fuzhou 350002, Fujian Province, China. jianghl476@sina.com

Received: 2013-10-10 Revised: 2013-10-27

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in Chinese military personnel.

METHODS: Using cluster sampling method, a questionnaire survey was conducted in 510 soldiers in the southern China. The questionnaire consisted of 67 items related to *H. pylori* infection. *H. pylori* infection was detected by measurement of serum *H. pylori* IgG antibody and by the ^{14}C breath test. The risk factors for *H. pylori* infection were analyzed.

RESULTS: A total of 510 subjects completed the questionnaire and received *H. pylori* detection. The prevalence of *H. pylori* infection was 59.2%. *H. pylori* infection was positively associated with age, service duration, collective accommodation time, number of family members before joining the army, eating ginger and potato and their products, and negatively related with the use of detergent when washing dishes. Married soldiers and those having a collective life history before joining the army soldiers had significantly higher *H. pylori* infection rates.

CONCLUSION: The prevalence of *H. pylori* infection in Chinese soldiers was 59.2%. *H. pylori* infection is associated with age, service duration, collective accommodation time, marriage, number of family members and collective life history before joining the army, and eating habits in Chinese soldiers.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Epidemiology; Risk factor; Questionnaire investigation; Military personnel

Jiang HL, Chen FW, Xia XL, Tian J, Han QF, Zhong Q, Chen ZJ, Jiang JC, Liu XJ. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Chinese military personnel. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4084-4091 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4084.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4084>

摘要

目的: 了解部队幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染情况, 探讨*H. pylori*感染的危险因素。

■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

方法: 采用整群抽样调查方法, 对南方战区某地510例军人进行问卷调查, 内容包括67项可能与*H. pylori*感染有关的问题。*H. pylori*检测采用血清*H. pylori* IgG抗体和¹⁴C呼气试验检查, 如任何一项检测结果阳性则判*H. pylori*感染为阳性, 分析*H. pylori*感染的危险因素。

结果: 510例军人完成了问卷调查和*H. pylori*检测, *H. pylori*感染率为59.2%。*H. pylori*感染率与年龄、服役时间、住排房时间、入伍前家庭人口数、吃生姜和土豆及其制品正相关, 与洗刷碗筷时使用洗洁剂负相关; 已婚、入伍前有集体生活史的军人,*H. pylori*感染率亦显著增高。

结论: 军人*H. pylori*感染率为59.2%, *H. pylori*感染与年龄、服役时间、住排房时间、婚姻、入伍前集体生活史和家庭人口数以及个人饮食卫生习惯有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 流行病学; 危险因素; 问卷调查; 军人

核心提示: 本文对510例基层部队军人幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况及其危险因素进行调查分析, 发现*H. pylori*感染率随年龄、服役时间、住排房时间的增加而增高, 已婚、入伍前家庭人口数多和有集体生活史以及喜吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率明显增高, 洗刷碗筷时使用洗洁剂可明显降低*H. pylori*感染率。

江汉龙, 陈芳旺, 夏学林, 田俊, 韩秋凤, 钟青, 陈正娇, 蒋际城, 刘小健. 幽门螺杆菌在某部军人中的感染情况及其危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4084-4091 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4084.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4084>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎的主要病因, 在消化性溃疡的发生与复发中起重要作用, 与胃癌的发生也有关, 世界卫生组织将其列为 I 类致癌物^[1,2]。上消化道疾病在军人中发病率较高, 对官兵的健康、部队战斗力影响较大。本研究旨在了解*H. pylori*在基层部队军人中的感染情况及其危险因素, 为部队制订正确有效的上消化道疾病防治措施提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2013-07/2013-08选取南方战区某地空

军雷达和高炮2种专业部队10个基层连队共510例军人参与调查, 均为男性, 年龄16-37岁(23.39岁±4.32岁)。

1.2 方法

1.2.1 调查: 调查方法为问卷调查, 被调查者填写一份统一设计的部队*H. pylori*感染研究问卷调查表。问卷调查内容包括个人基本情况、服役前家庭情况、服役情况、个人生活习惯、饮食习惯、既往及家族病史6个部分, 共67项可能与*H. pylori*感染、传播有关的问题。

1.2.2 *H. pylori*检测: 包括血清*H. pylori* IgG抗体和¹⁴C呼气试验两项。每位受调查者调查当天清晨空腹时采静脉血3 mL, 用有冰袋的储藏箱保存, 同日下午分离血清后, 采用福建省明溪海天蓝波生物技术有限公司生产的*H. pylori*抗体检测试剂盒(胶体金标记免疫斑点渗滤法)检测*H. pylori* IgG抗体, 其检测敏感性>95%, 特异性>85%。调查当天同时进行¹⁴C呼气试验检测*H. pylori*, 采用深圳市中核海德威生物科技有限公司生产HUBT-20A *H. pylori*测试仪检测, 所用¹⁴C呼气试验药盒由同一公司生产, 按操作说明书依次服药、吹气、检测及阳性结果评定。

1.2.3 *H. pylori*感染标准: 以血清*H. pylori* IgG抗体检测, ¹⁴C呼气试验中任何一项检测结果阳性判为*H. pylori*感染阳性, 两项均阴性作为感染阴性诊断标准。

统计学处理 研究数据收集后编码录入计算机, 整理分析统计软件采用SPSS18.0, *H. pylori*感染率以百分比表示, 各种危险因素的比较采用 χ^2 检验或 χ^2 线性趋势检验分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *H. pylori*感染率 510例军人¹⁴C呼气试验及血清*H. pylori* IgG抗体检测结果如表1。¹⁴C呼气试验240例阳性(47.1%), 血清*H. pylori* IgG抗体检测145例阳性(28.5%), 综合评估*H. pylori*感染302例(59.2%)。

2.2 *H. pylori*感染与个人基本情况 参与调查的军人均为男性, 个人基本情况包括年龄、受教育程度、婚姻、入伍前是否有集体生活史, 结果如表2。年龄与*H. pylori*感染有关($P<0.05$), 随着年龄增加*H. pylori*感染率亦逐渐升高(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 6.059$, $P = 0.014$), 20岁以下军人感染率为53.7%, 30岁以上军人*H. pylori*感染率为74.1%; 已婚军人*H. pylori*感染率(69.1%)比未婚

■研究前沿

*H. pylori*感染率全国各地差异很大, 在40%-90%之间, 平均59%。*H. pylori*感染与年龄、受教育程度、居住条件、经济条件、饮食因素、职业和家有人有*H. pylori*感染等关系较密切, 与性别、婚姻、地理位置、吸烟、饲养动物的关系尚不确定。

■ 相关报道

H. pylori 感染率随年龄的增大而增加, 农村高于城市, 经济状况差、家庭人口数多、居住拥挤、文化程度低、卫生习惯差及家人有 *H. pylori* 感染的人群 *H. pylori* 感染率增高; 有些饮食如绿茶、酸奶、豆制品及生姜、大蒜可降低 *H. pylori* 感染率, 但也有相反的报道。

表 1 *H. pylori* 感染率

	阳性		阴性	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
¹⁴ C呼气试验	240	47.1	270	52.9
血清 <i>H. pylori</i> IgG 抗体	145	28.5	364	71.5
<i>H. pylori</i> 感染	302	59.2	208	40.8

H. pylori: 幽门螺杆菌。

表 2 *H. pylori* 感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
年龄(岁)					6.059	0.014
<20	58	53.7	50	46.3		
20-24	126	57.0	95	43.0		
25-29	78	61.4	49	38.6		
>30	40	74.1	14	25.9		
受教育程度					2.784	0.099
初中及以下	34	51.5	32	48.5		
高中或中专	149	58.4	106	41.6		
大专、本科及以上	119	63.0	70	37.0		
婚姻					5.663	0.017
未婚	226	56.5	174	43.5		
已婚	76	69.1	34	30.9		
集体生活史					5.969	0.015
无	141	54.0	120	46.0		
有	161	64.7	88	35.3		

H. pylori: 幽门螺杆菌。

者(56.5%)明显增高($\chi^2 = 5.663$, $P = 0.017$); 入伍前有集体生活史的军人 *H. pylori* 感染率(64.7%)比无集体生活史者(54.0%)亦明显增高($\chi^2 = 5.969$, $P = 0.015$); *H. pylori* 感染率与文化程度无明显关系($P > 0.05$)。

2.3 *H. pylori* 感染与服役前家庭情况 入伍前家庭情况包括家庭人口数、家庭年人均收入、居住地区、家庭人均居住面积、有无饲养动物、饮用水源、家庭住房条件及卫生情况, 结果如表 3。*H. pylori* 感染与入伍前家庭人口数明显相关($P = 0.035$), 随着家庭人口数的增加, *H. pylori* 感染率亦逐渐升高(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 5.872$, $P = 0.015$); 家庭年人均收入、居住地区、人均住房面积、家庭有无饲养动物、饮用水源、住房条件及家庭卫生好坏与 *H. pylori* 感染无明显关系($P > 0.05$)。

2.4 *H. pylori* 感染与服役情况 服役时间3年及以

上军人的 *H. pylori* 感染率(63.2%)明显高于服役时间3年以内的军人(53.4%), 两者差异有统计学意义($P = 0.028$)。住排房时间3年及以上军人的 *H. pylori* 感染率(63.3%)亦明显高于没有超过3年的军人(54.1%), 两者差异有统计学意义($P = 0.036$)。集体用餐时间3年及以上官兵的 *H. pylori* 感染率(62.7%)高于没有超过3年的军人(54.3%), 但两者差异无统计学意义($P = 0.058$)(表4)。

2.5 *H. pylori* 感染与个人生活习惯 军人个人生活习惯调查结果如表5。是否分餐或使用公筷、共用牙杯、合用茶杯及饮茶、饮酒、吸烟对军人的 *H. pylori* 感染无明显影响($P > 0.05$); 洗刷碗筷时是否使用洗洁剂与军人的 *H. pylori* 感染率有关($P = 0.016$), 随着洗洁剂使用频率的减少, 军人的 *H. pylori* 感染率逐渐增加(χ^2 线性趋势检验, $\chi^2 = 7.565$, $P = 0.006$)。

2.6 *H. pylori* 感染与饮食习惯 军人的个人饮食习

表 3 *H. pylori*感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
家庭人口数(人)					6.728	0.035
≤3	76	50.7	74	49.3		
4	135	61.6	84	38.4		
≥5	91	64.5	50	35.5		
家庭年人均收入(元)					<0.001	0.994
<2000	59	60.2	39	39.8		
2000–3999	91	58.3	65	41.7		
4000–5999	72	59	50	41.0		
≥6000	89	59.7	54	40.3		
居住地区					1.074	0.585
城市	54	58.7	38	41.3		
城镇	68	63.6	39	36.4		
农村	180	57.9	131	42.1		
人均居住面积(m ²)					0.089	0.765
<20	82	60.3	54	39.7		
≥20	220	58.8	154	41.2		
饲养动物					0.032	0.857
无	207	59.5	141	40.5		
有	95	58.6	67	41.4		
饮用水源					2.914	0.233
地下水	105	63.3	61	36.7		
池塘、河水、沟渠	5	41.7	7	58.3		
自来水	192	57.8	140	42.2		
住房条件及家庭卫生					0.776	0.379
较好	158	61.2	100	38.8		
一般	137	57.1	103	42.9		
较差	7	58.3	5	41.7		

■创新盘点

本文调查基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素. 调查发现*H. pylori*感染率随年龄、服役时间、住排房时间的增加而增高, 已婚、入伍前家庭人口数多和有集体生活史以及喜吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率明显增高, 洗刷碗筷时使用洗洁剂可降低*H. pylori*感染率.

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 4 *H. pylori*感染与个人基本情况分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
服役时间(年)					4.843	0.028
<3	110	53.4	96	46.6		
≥3	192	63.2	112	36.8		
住排房时间(年)					4.419	0.036
<3	124	54.1	105	45.9		
≥3	178	63.3	103	36.7		
集体用餐时间(年)					3.593	0.058
<3	114	54.3	96	45.7		
≥3	188	62.7	112	37.3		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

惯调查结果如表6. 在饮食偏好上, 喜爱吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率较不喜欢或吃的少的军人明显增高($P<0.05$), 而是否喝

生水、喝醋、进食生蔬菜瓜果、生吃大蒜、进食辛辣食物、进食腌制熏制食物与*H. pylori*感染无明显关系($P>0.05$).

■应用要点

鉴于基层部队军人上消化道疾病发病率较高,且*H. pylori*感染与上消化道疾病的发生关系密切。通过对基层部队军人*H. pylori*感染情况及其危险因素的调查分析,有针对性的制订预防措施,降低*H. pylori*感染率,从而减少上消化道疾病的发生。

表 5 *H. pylori*感染与个人生活习惯分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
分餐或使用公筷					2.783	0.095
经常	196	57.6	144	42.4		
有时	77	59.7	52	40.3		
从不	29	70.7	12	29.3		
共用牙杯					0.006	0.940
不是	275	59.3	189	40.7		
是	27	58.7	19	41.3		
合用茶杯					4.676	0.197
总是	75	62.0	46	38.0		
多半是	91	62.3	55	37.3		
多半不是	33	47.8	36	52.2		
从来不	103	59.2	71	40.8		
洗刷碗筷时使用洗洁剂					8.316	0.016
总是	159	53.9	136	46.1		
多半是	108	65.9	56	34.1		
多半不是或从不	35	68.6	16	31.4		
饮茶					5.691	0.058
无	172	55.3	139	44.7		
有	94	67.1	46	32.9		
饮酒					0.047	0.829
无	221	58.9	154	41.1		
有	81	60.0	54	40.0		
吸烟					2.783	0.095
无	110	64.3	61	35.7		
有	192	56.6	147	43.4		

H. pylori: 幽门螺杆菌。

2.7 *H. pylori*感染与既往及家族史 官兵的既往上消化道症状和家族上消化道疾病史调查结果如表7。大部分官兵(504/510)均无家族上消化道疾病史;有上消化道症状的官兵*H. pylori*感染率为59.8%,无上消化道症状者*H. pylori*感染率为57.7%,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

*H. pylori*在全球自然人群的感染率各地差异很大^[3-9],发展中国家高于发达国家,经济越落后、文化水平越低,*H. pylori*感染率越高。我国*H. pylori*感染率为40%-90%,平均为59%^[10]。本调查结果显示510例军人¹⁴C呼气试验阳性240例(47.1%),血清*H. pylori* IgG抗体阳性145例(28.5%),*H. pylori*感染率为59.2%,与国内同类调查结果相近似^[11-13]。

许多研究表明,*H. pylori*感染率随年龄增长而增高^[3,5,14-22]。也有报道,在入伍后的前3年*H. pylori*感染率随着服役时间的增加而增高^[13,23]。

一般认为,随着年龄增长人们感染*H. pylori*的机会增多,人类感染*H. pylori*后,若不进行有效的治疗,几乎终身处于持续感染中,因此*H. pylori*感染率亦随年龄增长而增高。本组资料显示,军人随着年龄增加*H. pylori*感染率逐渐升高,20岁以下感染率为53.7%,30岁以上感染率为74.1%。本研究亦发现服役时间及住排房时间越长*H. pylori*感染率越高,集体用餐时间较长的军人*H. pylori*感染率亦有所增高,其原因可能是军人作为一特殊群体,有集体生活、居住密度相对较大、流动性强、饮食生活不规律、军事应激等特点;随着年龄、服役及住排房时间增加,相互间的接触增多,可能增加*H. pylori*传播的机会。

国内有报道,夫妻一方*H. pylori*感染阳性,其配偶*H. pylori*感染率为78.94%;而一方*H. pylori*感染阴性,其配偶*H. pylori*感染率为20%,提示*H. pylori*感染存在家族聚集性^[24,25]。有报道大城市居民*H. pylori*感染率低于小城镇或农村居民^[16,26-28],家庭人口数少于4人的家庭*H. pylori*感染率明显

表 6 *H. pylori*感染与饮食习惯分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
生姜					18.921	0.003
喜食	37	66.1	19	33.9		
一般	166	64.6	91	35.4		
不喜食	99	50.3	98	49.7		
土豆及其制品					9.535	0.003
<1次/wk	57	54.3	48	45.7		
1次/wk-1次/d	171	56.4	132	43.6		
>2次/d	74	72.5	28	27.5		
生吃大蒜					2.031	0.154
从来不吃	146	57.9	106	42.1		
两次以下	142	60.2	94	39.8		
每天吃	14	63.6	8	36.4		
喝生水					1.511	0.680
总是	6	50.0	6	50.0		
多半是	29	56.9	22	43.1		
多半不是	125	57.6	92	42.4		
从来不	142	60.0	87	40.0		
生吃蔬果					2.755	0.252
<1次/wk	126	55.8	100	44.2		
1次/wk-1次/d	123	63.7	70	36.3		
>2次/d	53	58.9	37	41.1		
醋					0.545	0.909
总是	24	61.5	15	38.5		
多半是	117	60.3	77	39.7		
多半不是	134	58.8	94	41.2		
从来不	27	55.1	22	44.9		
辛辣食品					0.961	0.811
总是	58	55.8	46	44.2		
多半是	152	61.0	97	39.0		
多半不是	86	58.9	60	41.1		
从来不	6	54.5	5	45.5		
熏制、腌制食品					1.308	0.727
总是	13	56.5	10	43.5		
多半是	124	62.3	75	37.7		
多半不是	156	57.4	116	42.6		
从来不	9	56.2	7	43.8		

■同行评价

本文是对军人中 *H. pylori*感染和相关危险因素的调查,具有一定的可读性。

H. pylori: 幽门螺杆菌。

降低^[21],提示*H. pylori*感染与经济状况、居住条件、生活环境有关。本调查结果显示已婚军人*H. pylori*感染率明显增高,入伍前家庭人口数多和有集体生活史的军人*H. pylori*感染率明显增高,提示居住密度及密切接触增加*H. pylori*感染。

*H. pylori*感染与个人饮食和卫生习惯的关系,相关报道差异较大^[1,2]。有报道绿茶^[17,29]、酸奶^[17]、豆制品^[17,30]及生姜^[21]、大蒜^[30]降低*H. pylori*感染率,而腌熏食品则相反^[17,30],认为绿茶

中的儿茶素和酸奶中的乳酸杆菌能抑制细菌的生长。也有报道生吃大蒜的人群*H. pylori*感染率更高^[20]。有研究显示*H. pylori*感染与家庭碗筷是否用洗洁精清洗有关,从不使用洗洁精清洗的家庭人群*H. pylori*感染率明显增高^[2]。本次调查结果显示,洗刷碗筷时使用洗洁剂明显减少*H. pylori*感染率;而喜爱吃生姜和土豆及其制品的军人*H. pylori*感染率没有降低,反而明显增高。

总之,本研究在基层部队军人中进行了*H.*

表 7 *H. pylori*感染与既往及家族史分析

因素	阳性		阴性		χ^2 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
家族上消化道疾病史					0.214	0.644
无	299	59.3	205	40.7		
有	3	50.0	3	50.0		
上消化道症状					0.195	0.658
无	86	57.7	63	42.3		
有	216	59.8	145	40.2		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

*pylori*感染流行状况及危险因素的调查, 军人*H. pylori*感染与年龄、服役时间、住排房时间、婚姻、入伍前集体生活史和家庭人口数以及个人饮食卫生习惯密切相关. 军人*H. pylori*感染与上消化道疾病的关系有待进一步研究.

4 参考文献

- 徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅. 江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3363-3370
- 陈世耀, 刘天舒, 樊晓明, 董玲, 方国汀, 涂传涛, 顾秀英, 王吉耀. 上海地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 中华医学杂志 2005; 85: 802-806
- Hanafi MI, Mohamed AM. Helicobacter pylori infection: seroprevalence and predictors among healthy individuals in Al Madinah, Saudi Arabia. *J Egypt Public Health Assoc* 2013; 88: 40-45 [PMID: 23528531 DOI: 10.1097/01]
- Carter FP, Frankson T, Pintard J, Edgecombe B. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in adults in the Bahamas. *West Indian Med J* 2011; 60: 662-665 [PMID: 22512225]
- Wex T, Venerito M, Kreutzer J, Götze T, Kandulski A, Malfertheiner P. Serological prevalence of Helicobacter pylori infection in Saxony-Anhalt, Germany, in 2010. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 2109-2112 [PMID: 22012975 DOI: 10.1128/CVI.05308-11]
- German SV, Zykova IE, Modestova AV, Ermakov NV. [Epidemiological characteristics of Helicobacter pylori infection in Moscow]. *Gig Sanit* 2011; (1): 44-48 [PMID: 21510047]
- Pandeya N, Whiteman DC. Prevalence and determinants of Helicobacter pylori sero-positivity in the Australian adult community. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1283-1289 [PMID: 21443663 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06726.x]
- Chi H, Bair MJ, Wu MS, Chiu NC, Hsiao YC, Chang KY. Prevalence of Helicobacter pylori infection in high-school students on Lanyu Island, Taiwan: risk factor analysis and effect on growth. *J Formos Med Assoc* 2009; 108: 929-936 [PMID: 20040457 DOI: 10.1016/S0929-6646(10)60005-8]
- Vilaichone RK, Mahachai V, Shiota S, Uchida T, Ratanachu-ek T, Tshering L, Tung NL, Fujioka T, Moriyama M, Yamaoka Y. Extremely high prevalence of Helicobacter pylori infection in Bhutan. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2806-2810 [PMID: 23687418 DOI: 10.3748/wjg.v19.i18.2806]
- 胡伏莲. 中国幽门螺杆菌研究现状. 胃肠病学 2007; 12: 516-518.
- 王雯, 王晓君, 王蓉, 李达周, 王育斌, 张志坚, 文晓冬. 消化性溃疡在某部军人中的发病情况及相关因素调查. 解放军医学杂志 2006; 31: 869-872
- 杨杰, 令狐恩强, 孙湖山, 邱霞, 黄凯, 潘玉启, 王青青. 沿海部队官兵幽门螺杆菌感染与上消化道疾病关系. 军医进修学院学报 2011; 32: 831-833
- 张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 郑淑梅, 陈虹彬. 军人上消化道疾病与幽门螺杆菌感染关系. 西南国防医药 2009; 19: 496-498
- Leja M, Cine E, Rudzite D, Vilkoite I, Huttunen T, Daugule I, Rumba-Rozenfelde I, Pimanov S, Liepniece-Karele I, Pahomova J, Purmalis K, Eglitis J, Pirags V, Dzerve V, Erglis A. Prevalence of Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 1410-1417 [PMID: 23114744 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283583ca5]
- Buzás GM, Lotz G, Schneider F, Józán J. [Changing prevalence of Helicobacter pylori infection in the 9th district of Budapest. A retrospective endoscopic study, 1997-2012]. *Orv Hetil* 2013; 154: 900-907 [PMID: 23728313 DOI: 10.1556/OH.2013.29630]
- 曹春莉, 苏秉忠, 康世荣. 内蒙古地区幽门螺旋杆菌感染情况分析. 内蒙古医学院学报 2010; 32: 183-186
- 刘瑶, 蔡文智, 王新颖, 甘丽美, 周梅花, 马久红, 郑梅兰. 广州市3所医院幽门螺杆菌感染患者饮食相关的影响因素调查. 护理学报 2011; 18: 13-15
- 曾凡玲, 向林. 重庆市城区体检人群幽门螺杆菌感染的血清流行病学调查. 重庆医科大学学报 2009; 34: 224-225
- 陈姝, 杨光, 吴祖常, 李鸣. 佛山地区体检人群幽门螺杆菌感染的血清流行病学分析. 广东医学 2011; 32: 869-870
- 黄燕, 徐袁, 曾莉, 秦慧, 杨英, 邹天富, 王佑娟. 成都地区体检人群幽门螺杆菌感染状况及其危险因素调查. 现代预防医学 2012; 39: 3494-3497
- 林蒙, 陈碰玉, 陈艳, 刘书议, 郑祖平, 卓星, 郑敏. 生姜产地幽门螺杆菌感染的家庭聚集性调查. 临床内科杂志 2003; 20: 72-73
- 涂佳音, 陈志平, 曹卫鹏, 刘劲松, 赵晓霞, 武小凤. 兰州市健康体检者幽门螺杆菌流行病学调查. 临床荟萃 2012; 27: 1754-1756
- Fürész J, Lakatos S, Németh K, Fritz P, Simon L, Kacsérka K. The prevalence and incidence of Helicobacter pylori infections among young recruits during service in the Hungarian Army. *Helicobacter* 2004; 9: 77-80 [PMID: 15156907]

- 24 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染的流行病学. 中国医刊 2007; 42: 17-18
- 25 范红敏, 袁聚祥, 徐应军, 张天哲. 农村居民家庭幽门螺杆菌感染的血清流行病学调查. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2948-2953
- 26 Celiński K, Kurzeja-Mirosław A, Słomka M, Cichoz-Lach H, Madro A, Kasztelan-Szczerbińska B. The effects of environmental factors on the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in inhabitants of Lublin Province. *Ann Agric Environ Med* 2006; 13: 185-191 [PMID: 17195990]
- 27 霍晓灵, 秦健, 张伟, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜. 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1568-1572
- 28 曹杰, 王选举, 刘芳, 辛毅, 施进, 刘志, 王龙, 许芳, 代海萍, 刘丹丹, 丁平, 郭志国, 李友梅, 秦艳秋, 任恒亚, 吴建敏, 马莉, 刘飞雪, 王凡. 安徽宿州地区人群幽门螺旋杆菌感染现况分析. 实用医学杂志 2012; 28: 3082-3084
- 29 Stoicov C, Saffari R, Houghton J. Green tea inhibits *Helicobacter* growth in vivo and in vitro. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 473-478 [PMID: 19157800 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.032]
- 30 张天哲, 张铁民, 赵丹丹, 唐桂钰. 中国人群幽门螺杆菌感染相关因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1582-1589

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系

吴光勤, 王雯

■背景资料

多项研究证实不管在正常人群还是在胃食管反流病患者中,餐后位于胃食管交界部存在一个逃避食物缓冲作用的高酸区域,称之为“酸袋”。其在胃食管反流病的发病病因中可能起重要作用,通过改变酸袋的存在,有可能达到治疗胃食管反流病的目的。

吴光勤, 王雯, 南京军区福州总医院消化内科 福建省福州市 350025

吴光勤, 硕士, 主要从事酸及酸相关疾病的研究。

福建省社会发展重点基金资助项目, No. 2011Y0044

作者贡献分布: 本文文献检索及论文撰写由吴光勤完成; 王雯负责审核。

通讯作者: 王雯, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院消化内科。wangw68@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-26

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease

Guang-Qin Wu, Wen Wang

Guang-Qin Wu, Wen Wang, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Supported by: the Key Social Development Project of Fujian Province, No. 2011Y0044

Correspondence to: Wen Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. wangw68@medmail.com.cn

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-26

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

Gastric acid pocket is an area of highly acid that escapes the neutralization of food in the proximal stomach after meals and has been noticed in healthy individuals and gastroesophageal reflux disease (GERD) patients. It was first found by Fletcher *et al*, who carried out a series of experiments in 2001. After that, other researchers have carried out in-depth studies on it. Hiatus hernia, gastric motility, gastric anatomy and physiology seem to be important elements for the genesis of postprandial proximal gastric acid pocket (PPGAP). Because PPGAP may play an important role in the pathogenesis of GERD, treatments for suppressing the production of gastric acid, anti-acid agents, prokinetic agents, surgery and other treatments may be used to alter the presence of PPGAP to achieve the purpose of treating GERD. Therefore, the discovery of gastric acid pocket

may provide a new idea for the treatment of GERD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acid pocket; Gastroesophageal reflux disease

Wu GQ, Wang W. Gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4092-4097 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4092.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4092>

摘要

胃内酸袋是餐后位于胃食管交界部的一个逃避食物缓冲作用的高酸区域,在正常人群及有胃食管反流病的患者中均可见,最早是在2001年由Fletcher等学者通过一系列实验研究发现,其后国内外不同学者对其进行了深入研究,认为其形成可能与食管裂孔疝、胃解剖结构、胃动力等因素相关。由于酸袋在胃食管反流病的发病病因中可能起重要作用,而通过抑酸药、抗酸剂、促动力药、外科手术等治疗来改变酸袋的存在,从而有可能达到治疗胃食管反流病的目的,因此酸袋的发现为胃食管反流病的治疗提供了新的治疗思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 酸袋; 胃食管反流病

核心提示: 胃内酸袋可能在胃食管反流病的发病中起重要作用,通过酸袋为治疗的靶点可能达到治疗胃食管反流病的目的。

吴光勤, 王雯. 胃内酸袋的研究进展及与胃食管反流病的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(36): 4092-4097 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4092.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4092>

0 引言

近年来餐后近端胃内酸袋(postprandial proximal

■同行评议者

陈贻胜, 教授, 福建省立医院; 袁红霞, 研究员, 天津中医药大学

gastric acid pocket, PPGAP)的概念日益受到学者的重视,他可能在胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的发病方面起重要作用,进而引起国内外众多学者的深入研究.本文将结合目前国内外最新研究进展,从酸袋的定义、形成的可能机制、其与胃食管反流病之间的关系,及能否通过酸袋为靶点来治疗胃食管反流病等四方面内容做一综述.

1 胃内酸袋的定义

餐后近端胃内酸袋概念的提出来自于临床观察,即餐后反流入食管内的胃内容物的pH值低于胃内pH值.并发现在餐后胃贲门部的酸性区域向近端延伸甚至达到鳞柱状交界区.虽然在正常人和胃食管反流病患者中均有此现象,但是随后的试验研究认为这种现象在GERD患者与食管裂孔疝患者中更明显^[1]. Barlow等^[2]指出在GERD患者中此类反流事件发生频率较之正常群体相比增加4-7倍.最主要的是,反流物的pH值较胃内pH值更低,即酸性更强.然而这似乎与正常观点相悖,因为进食后胃酸受到食物的缓冲作用,此时胃内的胃酸应该处于弱酸甚至中性状态,即使有反流,其pH值下降应不明显.正是这种矛盾现象,2001年Fletcher等^[3]进行了一系列的试验,他们发现在餐后胃食管交界(esophagogastric Junction, EGJ)存在一个未受食物缓冲作用的高酸区域.通过在10例健康志愿者中使用阶梯式酸度计电极牵拉法分别测定在禁食和进食后从近端胃、EGJ到食管的pH变化,发现在禁食状态下,胃内pH平均为1.4,而进食后升至4.4,但在胃食管交界部的pH却仍只有1.6,故他们将这个高酸区域称之为“酸袋”^[4].

然而迄今为止,酸袋的概念尚未统一.最初是认为其是一个逃避食物中和的未被缓冲的酸层;而后又有学者认为酸袋应定义为在胃的近端部位,在非酸性远端(接近食物一侧)与近食管下端之间的pH值<4的区域.2012年Boecxstaens定义酸袋为在一个超过4 cm的范围内其pH值相对于胃内pH值下降超过1个单位的区域^[5].而国内白璐等^[6]总结得出胃内酸袋是食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)下方胃食管连接部(esophagogastric junction, EGJ)一段很短的特殊区域,出现于餐后15 min,持续至餐后约90 min,平均pH值为1.6,明显低于餐后胃内缓冲区平均pH值为4.4.自从酸袋的概念被提出后,其后越来越多的学者使用不同的方法对其进行

研究证实,这些方法包括使用阶梯式酸度计电极牵拉法、多电极固定监测、单光子发射计算机断层成像术(single-photon emission computed tomography, SPECT)方法以及磁共振成像技术(magnetic resonance imaging, MRI)等,结果均证实酸袋只是餐后胃内食物消化过程中存在的一个特殊区域,而并不是一个充满未受食物缓冲作用的胃液的“袋子”^[4,7-9].然而, Pandolfino等^[10]依据在食管下括约肌区域内发现酸袋的事实,认为在胃食管交界部餐后呈现的酸是以“酸膜”的形式存在,而非“酸袋”,从而得出“酸膜”更能解释在反流疾病中食管远端黏膜的病变.因此对于这个餐后近端胃的高酸区域的定义有待进一步达成共识.

2 胃内酸袋形成的可能机制

2.1 酸袋的形成与食管裂孔疝关系 食管裂孔疝可通过削弱食管下括约肌的功能和食管的廓清能力而影响胃食管的运动,从而在反流疾病中发挥病理生理作用^[4,11,12].有研究者发现大食管裂孔疝患者的酸袋长,而其范围与膈裂孔以上胃黏膜的范围相符.食管裂孔疝患者餐后疝囊内不存在食物,所以,具有正常酸分泌功能的疝囊因缺少食物的缓冲作用,从而在其上方形成一个相对高酸的区域,即酸袋.因此,食管裂孔疝的存在为酸袋的产生提供了符合生理学的解释^[6]. Clarke等^[8]与Kasapidis等^[13]研究22例有反流的患者[其中12例有大食管裂孔疝(>3 cm)、10例有小裂孔疝(<3 cm)]与10例健康人发现在反流患者及健康人中一过性食管下括约肌松弛的发生率是相似的,但前者酸反流量较大.他们通过碍酸盐SPECT显像技术及内窥镜技术发现反流患者酸袋较长,并且酸袋位置大多位于食管裂孔疝附近和横膈膜上.从而得出酸袋的扩大是一过性食管下括约肌松弛患者酸反流的主要危险因素.这为以上这些患者虽然酸反流频率与健康者相似,但酸反流量却明显较大提供了合理的解释.另外他们还认为胃食管反流患者酸袋的扩大与食管裂孔疝的存在相关.

2.2 酸袋的形成与胃解剖结构关系 胃酸是由胃壁黏膜分泌的.进食后在胃腔的外围由于接近酸的分泌区将会呈现酸性更强,而胃腔中央由于食物的缓冲作用呈现弱酸状态.虽然食物的摄取会刺激胃酸分泌,但是由于食物使胃腔扩张,进而减少了单位表面积胃皱襞密度,即起到缓冲作用.然而在接近贲门部的胃皱襞由于近端膈肌裂

■ 研发前沿

目前对于胃食管反流病的发病病因仍不十分明确,而酸袋的发现,作为胃食管反流病的可能的发病病因,从而为今后的胃食管反流病的治疗,提供了新的治疗思路.

■相关报道

自从2001年Fletcher等发现酸袋的存在后,其后国内外众多学者对此进行了深入的研究,国内白璐等学者较早地阐述了胃内酸袋与胃食管反流病之间的关系,为后来的学者研究二者之间的关系指明了方向。

孔和食管下括约肌的限制而不会被扩展,故在餐后近端胃区域保存了一个高酸区域,即形成酸袋^[14,15]。有学者报道胃内酸袋的存在与身体姿势改变无关^[1],这一研究表明其并非基于胃酸附着在胃内容物上的这一重力或物理性原理而存在。此外,胃内pH监测也显示餐后胃内各部位pH值并不是均匀一致,从而均说明胃的解剖结构可能与胃内酸袋的形成相关^[16]。Herbella等^[17-20]研究了15例胃手术后患者的酸袋存在情况,术前均证实这些患者有酸袋的存在。他们通过分析三种类型的胃部手术: Roux-en-Y胃旁路术(Roux-en-Y gastric bypass, RYGB)、远端胃切除术、Nissen胃底折叠术,以确定胃的解剖结构对酸袋的影响。三种手术类型中RYGB术作为胃底缺如的试验模型,远端胃切除术作为胃窦缺如时的模型,而Nissen胃底折叠术用来作为近端胃改变的模型。术后发现在这些人中仅有15%继续存有酸袋。这些结果与文献资料相比,说明胃的解剖结构变化,显著地影响酸袋的存在,从而也可以说明胃解剖结构与酸袋的形成相关。

2.3 酸袋的形成与胃动力关系 胃动力可能在酸袋成因中发挥作用。Katzka等^[21]指出在餐后存在不因身体姿势改变的胃体贲门的酸反流,其原因可能是餐后胃的大部分区域是相对静止的,因此易造成酸反流。Goetze等^[22]的研究也认为餐后近端胃是相对静止的,这样使分泌的胃液浮在食糜上,从而形成高酸区域。而后胃内容物等在胃壁运动神经元等支配下,向胃窦部运动。Herbella等^[18]对胃内压进行研究,发现不存在近端胃内压,但有研究显示在经过RYGB术后的患者中近端胃压力增加,且该研究还发现在这些患者中,食物从近心端被快速推下留下了与黏膜密切接触的无缓冲胃液,即高酸性区域,只不过他们称之为“酸膜”而非“酸袋”^[5,23,24]。Herbella等^[18]也通过试验证实胃动力在经历RYGB手术后患者的酸袋形成中起重要作用,但是胃动力在其他患者中的酸袋的形成机制中仍不清楚。此外,Boecxstaens等^[25]报道促动力药可破坏酸袋的存在。Yamashita等^[26]指出餐后酸反流可能是因为胃排空延迟所致。因此胃动力可能与酸袋的形成相关。

2.4 酸袋的形成与进食食物种类关系 Fletcher等^[6,23]报道在进食高脂食物后,酸袋向食管的近端移动;同样地,另有学者认为进食高脂、高蛋白、香辣等食物后酸袋易出现,其原因可能为这类食物延长胃排空的时间,从而增加食管下括约

肌一过性松弛有关^[6]。

2.5 其他 还有研究者认为,酸袋的形成与餐后食管的部分缩短、胃食管交界部的唾液中和能力不同有关^[6]。

3 胃内酸袋与胃食管反流病

GERD可分为非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)三种类型,也可称为GERD相关疾病。林三仁等^[27]认为GERD的三种类型相对独立,相互之间不转化或很少转化,但有些学者则认为这三者之间可能有一定相关性^[28]。GERD是种常见多发病,在西方,该病发病率约为10%-20%,亚洲国家发病率约为5%,并呈上升趋势^[29,30]。GERD是一种多因素促成的上消化道动力障碍性疾病,解剖学与功能学异常共同参与其发病机制^[31,32]。目前有共识的发病机制是反流物对食管黏膜攻击作用增强和食管黏膜抗反流的防御机制下降。此外食管裂孔疝、胃排空延缓、遗传与环境因素、不良的饮食习惯以及吸烟等不良嗜好也与GERD有关^[33-35]。

近年来,胃内酸袋作为胃食管反流病的可能发病机制之一,也越来越受到众多学者关注。有研究报道称胃贲门部的炎症及胃食管交界处的肠化生具有很高的发病率,这可能与酸袋的存在有关^[8,36]。GERD是种酸相关疾病。在这种情况下,在贲门部酸袋的存在,对于酸反流可能有较大的影响^[37]。为比较正常人与严重GERD患者之间酸袋的形成、解剖学位置的差异,Clarke等^[8]用双导管pH监测仪以及测压法对12例健康者和16例严重GERD患者进行研究。通过放射性显影确定酸袋的位置,餐后15 min监测pH,且餐前、餐后均行钡餐检查。结果显示GERD患者酸袋发病率(23/32)较健康者(11/24)显著高,形成的酸袋平均长约3 cm,明显长于健康对照组(2 cm),由此推测餐后胃食管交界处以下部位的扩大的酸袋可能是其病因之一。Vo等^[38]和Hila等^[39]研究发现健康者同样存在酸袋^[7]。尽管Clarke等^[8]通过提拉式pH计研究报道酸袋在健康者中比在反流患者中要少见,但目前仍无大量证据证实酸袋在GERD患者中比在正常人中更常见^[40]。国内胡晔东等^[41]使用4通道食管测压系统确定受试者食管下括约肌位置,将单通道pH电极置于LES远端下方1 cm处监测空腹pH值0.5 h,给予标准餐后继续监测pH值2 h,然后将探针移至LES近端

上方5 cm处行24 h动态pH监测. 结果显示反流性食管炎患者与健康者均存在酸袋. 并发现反流性食管炎组较健康组有异常酸反流, 且酸袋出现时间早、平均pH值低, 其食管黏膜损伤可能与此有关, 从而也说明了酸袋与GERD相关. 同样Rohof等^[42]通过研究餐后酸反流、酸袋、食管裂孔疝的关系, 也认为酸袋在GERD的发病机制中起重要作用. 因此酸袋的发现为GERD的研究提供了新思路, 应引起足够重视.

4 胃内酸袋与胃食管反流病治疗

酸袋除了上述在GERD患者中作为食管酸暴露的可能发病机制外, 已有研究报道还可作为一种独特的治疗靶向^[42-45]. Kwiatek等^[46]研究发现藻酸盐(一种从海带中分离出的天然多糖类聚合物), 可以去除酸袋, 因其在胃腔上面形成一层凝胶样的屏障. 其原理是在与胃酸的接触过程中, 藻酸盐沉淀成接近中性的低密度黏性凝胶. 由于pH的改变, 使包含在其中的碳酸氢钠产生出CO₂, 这样包含有CO₂的凝胶漂浮在胃内容物上面如同“筏”一样, 从而直接或间接影响酸袋或酸膜的形成, 进而达到治疗GERD的目的.

GERD治疗中最主要的治疗是抑酸治疗, Morgan等^[47]比较了3种不同的质子泵抑制剂在80例西班牙裔GERD患者中认为是酸袋区的抑酸效果. 他们发现通过抑酸处理后, 虽然说酸袋仍存在, 但是其体积变小、在此区域的24 h pH监测中有超过61%的时间内其值接近中性, 即经过抑酸处理后酸袋的酸性减弱, 但是他们并没有进一步去比较不同药物的治疗效果. Vo等^[38]研究雷贝拉唑在酸袋区的治疗效果, 结果也显示治疗后酸袋体积变小, 且pH值由1升到4, 说明抑酸治疗是可以改变酸袋的存在而减少酸反流的. Tytgat^[48]的研究也认为酸袋在GERD的发病中起重要作用, 而去除酸袋是可以达到治疗目标的.

此外, 促动力药通过促进胃排空, 进而干扰酸袋的形成, 从而可以达到治疗GERD的目的^[49]. Boeckstaens等研究证实红霉素(促动力剂)可以抑制酸袋的形成, 而Sumatriptan(一种动力抑制剂)没有. 同样地, Rohof等研究阿奇霉素(促动力剂)对合并有小食管裂孔疝的酸袋的作用, 发现其也可抑制酸袋的存在, 并可使裂孔疝变小、酸反流频率降低, 但在合并有大裂孔疝的患者中却没有发现此作用. 另有在健康志愿者中的研究证实γ-氨基丁酸受体激动剂-巴氯芬明显

减少酸袋的体积, 且能增加LES压力, 减少酸反流^[4,50,51].

尽管GERD治疗中抑酸治疗是主要的也是疗效较好的方式, 但还是有部分难治性GERD患者对抑酸治疗效果欠佳, 对于此部分患者可考虑行手术治疗. 目前RYGB术被认为是控制GERD症状的有效术式. 此手术后显示酸袋区域变小、患者的症状明显改善, 且手术还不会影响正常胃酸分泌^[5,52]. Herbella等^[17-20]也证实了上述观点, 他们研究在有酸袋的GERD患者中经过Nissen胃底折叠术或远端胃大部切除术或RYGB手术后, 再次监测发现酸袋是几乎不存在的. 因此手术可以作为难治性GERD患者的一种治疗选择.

5 结论

胃酸可杀死随食物摄入的潜在致病微生物, 因此形成的酸袋能在进餐时作为维持酸屏障而存在. 但是酸袋对于远端食管的酸暴露具有不利的影响, 与此部位的食管炎、肠化生及癌变等并发症有潜在的相关性. 酸袋的提出对于认识餐后酸反流模式及他们与胃内pH间的关系是非常有价值的; 同时为餐后酸反流提供了一个合理的解释. 然而, 这个短暂改变的酸袋与反流性疾病的关系仍不太清楚^[5]. 一方面酸袋如何逃避食物缓冲的具体机制到目前为止仍不明确; 另一方面在有不同严重程度的GERD患者中酸袋的大小与持续时间和他们发病的相关性等仍需要进一步阐释.

总之, 对酸袋的发现及认识将可能为胃食管反流病的发病机制与治疗等带来新的突破, 但是存在的问题, 仍需众多学者进一步深入研究.

6 参考文献

- 1 Beaumont H, Bennink RJ, de Jong J, Boeckstaens GE. The position of the acid pocket as a major risk factor for acidic reflux in healthy subjects and patients with GORD. *Gut* 2010; 59: 441-451 [PMID: 19651625 DOI: 10.1136/gut.2009.178061]
- 2 Barlow AP, Hinder RA, DeMeester TR, Fuchs K. Twenty-four-hour gastric luminal pH in normal subjects: influence of probe position, food, posture, and duodenogastric reflux. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 2006-2010 [PMID: 7942727]
- 3 Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 2001; 121: 775-783 [PMID: 11606490 DOI: 10.1053/gast.2001.27997]
- 4 Kahrilas PJ, McColl K, Fox M, O'Rourke L, Sifrim D, Smout AJ, Boeckstaens G. The acid pocket: a target for treatment in reflux disease? *Am J Gastro-*

■创新盘点

本文在广泛阅读国内外关于酸袋的研究进展后, 从酸袋的定义、其在胃食管反流病的发病病因及治疗中的作用等方面对二者之间的关系进行了深入地总结.

■应用要点

酸袋可能参与胃食管反流病的发病病因,因此,针对酸袋的治疗如通过抑酸药、抗酸剂、促动力药、外科手术等治疗来改变酸袋的存在,从而有可能达到治疗胃食管反流病的目的,在临床治疗方面有较好地指导意义。

- enterol 2013; 108: 1058-1064 [PMID: 23629599 DOI: 10.1038/ajg.2013.132]
- 5 Herbella FA, Vicentine FP, Silva LC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket and gastroesophageal reflux disease. *Dis Esophagus* 2012; 25: 652-655 [PMID: 22171648 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01293.x]
- 6 白璐, 胡晔东, 刘菲. 胃内酸袋及其与胃食管反流病相关性的研究进展. *国际消化病杂志* 2009; 29: 250-251
- 7 Simonian HP, Vo L, Doma S, Fisher RS, Parkman HP. Regional postprandial differences in pH within the stomach and gastroesophageal junction. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2276-2285 [PMID: 16416175 DOI: 10.1007/s10620-005-3048-0]
- 8 Clarke AT, Wirz AA, Manning JJ, Ballantyne SA, Alcorn DJ, McColl KE. Severe reflux disease is associated with an enlarged unbuffered proximal gastric acid pocket. *Gut* 2008; 57: 292-297 [PMID: 17272648]
- 9 Kuiken S, Van Den Elzen B, Tytgat G, Bennink R, Boeckstaens G. Evidence for pooling of gastric secretions in the proximal stomach in humans using single photon computed tomography. *Gastroenterology* 2002; 123: 2157-2158; author reply 2158 [PMID: 12454881 DOI: 10.1053/gast.2002.37299]
- 10 Pandolfino JE, Zhang Q, Ghosh SK, Post J, Kwiatek M, Kahrilas PJ. Acidity surrounding the squamocolumnar junction in GERD patients: "acid pocket" versus "acid film". *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2633-2641 [PMID: 17714553 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01488.x]
- 11 Kahrilas PJ, Lin S, Chen J, Manka M. The effect of hiatus hernia on gastro-oesophageal junction pressure. *Gut* 1999; 44: 476-482 [PMID: 10075953 DOI: 10.1136/gut.44.4.476]
- 12 Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ. Effect of peristaltic dysfunction on esophageal volume clearance. *Gastroenterology* 1988; 94: 73-80 [PMID: 3335301]
- 13 Kasapidis P, Vassilakis JS, Tzovaras G, Chrysos E, Xynos E. Effect of hiatal hernia on esophageal manometry and pH-metry in gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2724-2730 [PMID: 8536537]
- 14 McColl KE, Clarke A, Seenan J. Acid pocket, hiatus hernia and acid reflux. *Gut* 2010; 59: 430-431 [PMID: 20332515]
- 15 Grigolon A, Cantú P, Bravi I, Caparello C, Penagini R. Subcardial 24-h wireless pH monitoring in gastroesophageal reflux disease patients with and without hiatal hernia compared with healthy subjects. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2714-2720 [PMID: 19638965]
- 16 Clarke AT, Wirz AA, Seenan JP, Manning JJ, Gillen D, McColl KE. Paradox of gastric cardia: it becomes more acidic following meals while the rest of stomach becomes less acidic. *Gut* 2009; 58: 904-909 [PMID: 19060017]
- 17 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG, Arasaki CH. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after Roux-en-Y gastric bypass. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1742-1745 [PMID: 20717738 DOI: 10.1007/s11605-010-1309-5]
- 18 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket and gastric pressure in patients after gastric surgery. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 52-55, e4 [PMID: 20946544]
- 19 Herbella FA, Vicentine FP, Del Grande JC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after laparoscopic Nissen fundoplication. *Surg Endosc* 2011; 25: 3198-3201 [PMID: 21487860 DOI: 10.1007/s00464-011-1688-z]
- 20 Herbella FA, Vicentine FP, Silva LC, Patti MG. Postprandial proximal gastric acid pocket in patients after distal gastrectomy. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 1081-1083 [PMID: 21936879 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01790.x]
- 21 Katzka DA, Gideon RM, Castell DO. Normal patterns of acid exposure at the gastric cardia: a functional midpoint between the esophagus and stomach. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1236-1242 [PMID: 9707044 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00402.x]
- 22 Goetze O, Treier R, Fox M, Steingotter A, Fried M, Boesiger P, Schwizer W. The effect of gastric secretion on gastric physiology and emptying in the fasted and fed state assessed by magnetic resonance imaging. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 725-e42 [PMID: 19344341 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01293.x]
- 23 Fletcher J, Wirz A, Henry E, McColl KE. Studies of acid exposure immediately above the gastro-oesophageal squamocolumnar junction: evidence of short segment reflux. *Gut* 2004; 53: 168-173 [PMID: 14724145 DOI: 10.1136/gut.2003.022160]
- 24 Pandolfino JE, Lee TJ, Schreiner MA, Zhang Q, Roth MP, Kahrilas PJ. Comparison of esophageal acid exposure at 1 cm and 6 cm above the squamocolumnar junction using the Bravo pH monitoring system. *Dis Esophagus* 2006; 19: 177-182 [PMID: 16722995 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2006.00561.x]
- 25 Boeckstaens V, Bisschops R, Blondeau K, Vos R, Scarpellini E, De Wulf D, Tack J. Modulation of the postprandial acid and bile pockets at the gastro-oesophageal junction by drugs that affect gastric motility. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1370-1377 [PMID: 21517922 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04664.x]
- 26 Yamashita Y, Mason RJ, Demeester TR. Postprandial acid reflux is reduced by delayed gastric emptying. *J Smooth Muscle Res* 2003; 39: 87-93 [PMID: 14692694]
- 27 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食管反流病共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 233-239
- 28 Fass R, Ofman JJ. Gastroesophageal reflux disease--should we adopt a new conceptual framework? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1901-1909 [PMID: 12190152]
- 29 El-Serag HB, Ergun GA, Pandolfino J, Fitzgerald S, Tran T, Kramer JR. Obesity increases oesophageal acid exposure. *Gut* 2007; 56: 749-755 [PMID: 17127706 DOI: 10.1136/gut.2006.100263]
- 30 Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005; 54: 710-717 [PMID: 15831922 DOI: 10.1136/gut.2004.051821]
- 31 Festi D, Scafoli E, Baldi F, Vestito A, Pasqui F, Di Biase AR, Colechia A. Body weight, lifestyle, dietary habits and gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1690-1701 [PMID: 19360912 DOI: 10.3748/wjg.15.1690]
- 32 Chen M, Xiong L, Chen H, Xu A, He L, Hu P. Prevalence, risk factors and impact of gastroesophageal reflux disease symptoms: a population-based study in South China. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40:

- 759-767 [PMID: 16118911 DOI: 10.1080/00365520510015610]
- 33 Mohammed I, Cherkas LF, Riley SA, Spector TD, Trudgill NJ. Genetic influences in gastro-oesophageal reflux disease: a twin study. *Gut* 2003; 52: 1085-1089 [PMID: 12865263 DOI: 10.1136/gut.52.8.1085]
- 34 Kaltenbach T, Crockett S, Gerson LB. Are lifestyle measures effective in patients with gastroesophageal reflux disease? An evidence-based approach. *Arch Intern Med* 2006; 166: 965-971 [PMID: 16682569 DOI: 10.1001/archinte.166.9.965]
- 35 Mohammed I, Nightingale P, Trudgill NJ. Risk factors for gastro-oesophageal reflux disease symptoms: a community study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 821-827 [PMID: 15801917 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02426.x]
- 36 Sifrim D, Holloway R, Silny J, Xin Z, Tack J, Lerut A, Janssens J. Acid, nonacid, and gas reflux in patients with gastroesophageal reflux disease during ambulatory 24-hour pH-impedance recordings. *Gastroenterology* 2001; 120: 1588-1598 [PMID: 11375941 DOI: 10.1053/gast.2001.24841]
- 37 Holloway RH, Sifrim DA. The acid pocket and its relevance to reflux disease. *Gut* 2008; 57: 285-286 [PMID: 18268050 DOI: 10.1136/gut.2006.118414]
- 38 Vo L, Simonian HP, Doma S, Fisher RS, Parkman HP. The effect of rabeprazole on regional gastric acidity and the postprandial cardia/gastro-oesophageal junction acid layer in normal subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1321-1330 [PMID: 15932362]
- 39 Hila A, Bouali H, Xue S, Knuff D, Castell DO. Postprandial stomach contents have multiple acid layers. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 612-617 [PMID: 16917403 DOI: 10.1097/00004836-200608000-00010]
- 40 Sifrim D, Holloway R, Silny J, Tack J, Lerut A, Janssens J. Composition of the postprandial refluxate in patients with gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 647-655 [PMID: 11280529 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03598.x]
- 41 胡晔东, 白璐, 刘菲, 徐文, 李伟. 酸袋在反流性食管炎中作用的研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 882-884
- 42 Rohof WO, Bennink RJ, de Ruigh AA, Hirsch DP, Zwinderman AH, Boeckxstaens GE. Effect of azithromycin on acid reflux, hiatus hernia and proximal acid pocket in the postprandial period. *Gut* 2012; 61: 1670-1677 [PMID: 22267599 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300926]
- 43 Rohof WO, Bennink RJ, Smout AJ, Thomas E, Boeckxstaens GE. An alginate-antacid formulation localizes to the Acid pocket to reduce Acid reflux in patients with gastroesophageal reflux disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1585-1591 [PMID: 23669304 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.04.046]
- 44 Netzer P, Schmitt B, Inauen W. Effects of ABT-229, a motilin agonist, on acid reflux, oesophageal motility and gastric emptying in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1481-1490 [PMID: 12182748 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01324.x]
- 45 Sweis R, Kaufman E, Anggiansah A, Wong T, Dettmar P, Fried M, Schwizer W, Avvari RK, Pal A, Fox M. Post-prandial reflux suppression by a raft-forming alginate (Gaviscon Advance) compared to a simple antacid documented by magnetic resonance imaging and pH-impedance monitoring: mechanistic assessment in healthy volunteers and randomised, controlled, double-blind study in reflux patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 1093-1102 [PMID: 23600790]
- 46 Kwiatek MA, Roman S, Fareeduddin A, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action Liquid) can eliminate or displace the postprandial 'acid pocket' in symptomatic GERD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 59-66 [PMID: 21535446 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04678.x]
- 47 Morgan D, Pandolfino J, Katz PO, Goldstein JL, Barker PN, Illueca M. Clinical trial: gastric acid suppression in Hispanic adults with symptomatic gastro-oesophageal reflux disease - comparator study of esomeprazole, lansoprazole and pantoprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 200-208 [PMID: 20456300 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04335.x]
- 48 Tytgat GN. Recent developments in gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus: ANNO 2012. *J Dig Dis* 2012; 13: 291-295 [PMID: 22624551 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00598.x]
- 49 Lee YY, Whiting JG, Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, Smith D, Morrison D, Kelman A, Connolly P, McColl KE. Kinetics of transient hiatus hernia during transient lower esophageal sphincter relaxations and swallows in healthy subjects. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 990-e539 [PMID: 22680279 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01948.x]
- 50 Kawai M, Kawahara H, Hirayama S, Yoshimura N, Ida S. Effect of baclofen on emesis and 24-hour esophageal pH in neurologically impaired children with gastroesophageal reflux disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 317-323 [PMID: 15076634 DOI: 10.1097/00005176-200403000-00017]
- 51 Treier R, Steingoetter A, Goetze O, Fox M, Fried M, Schwizer W, Boesiger P. Fast and optimized T1 mapping technique for the noninvasive quantification of gastric secretion. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28: 96-102 [PMID: 18581398 DOI: 10.1002/jmri.21400]
- 52 Yuasa N, Abe T, Sasaki E, Fukaya M, Nimura Y, Miyahara R. Comparison of gastroesophageal reflux in 100 patients with or without prior gastroesophageal surgery. *J Gastroenterol* 2009; 44: 650-658 [PMID: 19434363 DOI: 10.1007/s00535-009-0055-5]

■同行评价

本论文选题新颖, 行文流畅, 论据充分, 能够从学术前沿的角度提出全新的理念, 有助于今后在这一领域继续研究探讨, 具有一定临床指导价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃癌HER2检测的进展

丁然, 余英豪

■背景资料

近期ToGA试验证实采用曲妥珠单抗联合化疗治疗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)阳性的晚期胃癌和胃食管连接部腺癌, 使患者的总生存期从单纯化疗的11.1 mo提高到13.8 mo. 该结果为晚期胃癌和胃食管连接部腺癌患者带来新希望.

丁然, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科福建省福州市 350025

丁然, 主要从事肿瘤病理的诊断与研究.

作者贡献分布: 本文综述由丁然完成; 余英豪审校.

通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科. yuyinghao0808@126.com

电话: 0591-83717703

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

New advances in HER2 testing in gastric cancer

Ran Ding, Ying-Hao Yu

Ran Ding, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignancies and represents the second leading cause of cancer death worldwide. The ToGA trial has shown that the humanized anti-HER2 (human epidermal growth factor receptor-2) monoclonal antibody Trastuzumab is effective in prolonging survival in patients with HER2-positive carcinoma of the stomach and the gastroesophageal junction (GEJ). Trastuzumab in combination with chemotherapy can be considered as a new standard option for patients with HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer. Therefore, it is crucial to accurately screen patients with HER2-positive gastric cancer. This article mainly discusses the recent advances in HER2 testing in gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Gastroesophageal junction carcinoma; HER2; Immunohistochemistry; Fluorescence *in situ* hybridization

Ding R, Yu YH. New advances in HER2 testing in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4098-4103
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4098.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4098>

摘要

胃癌是常见恶性肿瘤之一, 是癌症相关死亡的第二大常见肿瘤. ToGA试验证实人源化抗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)单克隆抗体曲妥珠单抗能够有效延长HER2阳性胃癌、胃食管连接部腺癌患者的生存期, 并将曲妥珠单抗联合化疗作为胃癌、胃食管连接部腺癌的标准治疗方案. 因此, 精准的筛选HER2阳性的胃癌患者至关重要. 本文对胃癌HER2检测的方法标准、指导方针以及一些新观点进行简要综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 胃食管连接部腺癌; 类表皮生长因子受体2; 免疫组织化学; 荧光原位杂交

核心提示: 本文主要从人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)表达的异质性、原发性与转移灶HER2表达的一致性、内镜活检标本可否用于HER2检测、HER2点突变等方面阐述近年来胃癌HER2检测的新进展.

丁然, 余英豪. 胃癌HER2检测的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4098-4103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4098.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4098>

0 引言

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 近年来虽然全球范围内胃癌发病率有所下降, 但其依然是癌症相关死亡的第二大常见肿瘤^[1], 据估计每年有930000新发病例, 年死亡人数超过700000例^[2], 其发病率存在较大的地域差异, 与饮食、生活方式、经济状况以及幽门螺旋杆菌感染流行相关^[3]. 超过2/3新发病例和死亡病例发生于发展中

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

国家, 其中东亚占42.4%(主要是中国). 2010年中国男女发病率分别为28.7/10000和13.8/10000^[4].

虽然胃癌的诊断技术日趋成熟, 但大多数患者在初诊时已处于胃癌晚期或已经转移, 失去了手术的最佳时间^[5]. 近来, 一项涉及全球24个国家的国际多中心临床III期试验即ToGA试验, 该研究采用曲妥珠单抗联合化疗治疗人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)阳性的晚期胃癌和胃食管连接部腺癌, 总生存期提高到13.8 mo, 单纯化疗总生存期为11.1 mo^[6]. 该结果为晚期胃癌和胃食管连接部腺癌患者带来了新希望.

胃癌中HER2阳性率报道从6%-35%不等^[7-11], 造成这种结果的原因可能有种族不同, 样本量过小, 非标准化实验的使用等因素, 但更重要的是HER2阳性判定缺乏统一重复性好的标准^[12]. 合适筛选HER2阳性患者而使更多的患者受益, 是病理工作者必须面对的问题. 为此, 本文就HER2在胃癌检测中的评分标准、常见问题及近年来的新进展和亟待解决问题做全面的阐释.

1 免疫组织化学评分标准

由于乳腺癌和胃癌临床病理特点不同, 简单地将乳腺癌的HER2评分标准引入胃癌观察显然是不恰当的^[13]. 使用乳腺癌HER2的评分标准来判断胃癌HER2表达, 将导致胃癌中阳性病例数降低^[14]. 因为HER2在胃癌和乳腺癌的表达上存在两大不同点: (1)免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)胃癌细胞呈不完整膜着色比乳腺癌更常见^[15]; (2)胃癌组织异质比乳腺癌更常见^[16]. Hofmann等^[17]在乳腺癌HER2评分标准基础上修订的胃癌HER2检测标准, 在ToGA试验中得到验证并被广泛接受. 由于较多的胃癌细胞保留了腔面的分泌功能而不被染色, 从而形成“U”型(基底膜和侧面)不完整膜着色. 修改后的评分标准包含了“完全细胞膜着色”及“不完全细胞膜着色”并用的标准. 另外, 由于胃癌组织HER2表达的异质性较高, 因此以 $\geq 10\%$ 瘤细胞着色作为判断阳性的标准适用于手术切除标本, 而不适用于活检组织标本. 精准的评分标准应以组织学特点为基础, 而不是基于主观判断. Rüschoff等^[18]进行了HER2 IHC评分标准在实验室和观察者间的可重复性的实验, 结果出人意料, 实验显示造成阳性判定不一致的原因为观察者对IHC评分的认知不同. 基于这种情况, 他们提出了新的量化标准, 即放大倍数规则:

裸眼或低倍镜下($\times 2.5/\times 5$)可见膜着色为3+; 中倍镜下($\times 10$)可见膜着色为2+; 高倍镜下($\times 20/\times 40$)可见膜着色为1+; 否则视为阴性.

Rüschoff等^[18]还对HER2 IHC评分的常见问题作了完善总结, 提出HER2阳性的判定应排除非肿瘤性病变造成的非特定染色(如肠上皮化生、边缘的破碎组织和坏死物)以及所有模棱两可的膜着色(如颗粒状膜着色).

2 荧光原位杂交与IHC HER2表达的一致性

乳腺癌与胃癌的荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)评分标准相似^[19]. Hofmann等^[17]在分析168例胃及胃食管连接部腺癌时, 取HER2/17号染色体着丝粒(centromere enumerator probe 17, CEP-17)比值 ≥ 2.0 定义为HER2基因扩增, 显示FISH和IHC的一致性为93.5%. ToGA试验采用比值 ≥ 2.0 这一评分标准, 胃癌的FISH和IHC一致率为87%^[20]. 通过应用曲妥珠单抗联合化疗治疗HER2阳性胃及胃食管连接部腺癌, 患者总生存期和中位生存期有明显提高, 认为该评分标准与临床研究有较好的相关性. 多数研究结果均显示IHC和FISH具有较高的一致性^[21-23]. 如近期Yan等^[24]的一项研究发现, 新加坡胃癌患者HER2基因扩增和蛋白过表达率分别为11.7%(15/128)和9.4%(12/128), 两者具有明显的符合率, 但是存在部分病例HER2蛋白过表达和基因扩增不一致.

关于HER2蛋白过表达和基因扩增不一致的原因, 目前大致有以下观点: (1)组织固定处理、抗体批次不同及观察者之间的判读差异^[25]; (2)胃癌HER2表达的高度异质性, 选择组织切片不同、观察的肿瘤区域不同^[26]; (3)17号染色体多倍体. Liu等^[27]实验发现38% IHC3+/FISH-病例和54% IHC2+/FISH-病例为17号染色体多倍体, 提示17号染色体多倍体能够引起HER2蛋白过表达; (4)HER2点突变, 这种病例少见^[28].

3 HER2表达的异质性

如前所述, 胃癌HER2的表达具有明显的异质性^[29], 包括局部异质性和遗传异质性. 局部异质性系指IHC膜染色阳性的瘤细胞占有肿瘤细胞的10%-70%; 遗传异质性是指 $> 5\%$ 至 $< 50\%$ 的肿瘤细胞HER2/CEP-17比率高于2.0^[30]. 部分患者病灶中存在一定比例的HER2基因异质性扩增, 具有肿瘤的遗传异质性, 但是FISH判读为阴性. 在国内这部分病例的比例尚未见报道, 这些患者

■ 研发前沿

胃癌患者靶向治疗获益明显, 如何筛选HER2阳性的患者至关重要. 因此, HER2的检测成为研究热点, 尤其是EHR2的异质性.

■相关报道

研究报道HER2 IHC和FISH检测具有高符合率, 原发灶和转移灶HER2表达具有一致性。内窥镜活检标本与外科手术标本在HER2表达方面具有一致性。

可否在靶向治疗中获益值得关注。

研究表明, 乳腺癌中HER2遗传异质性缺乏特异性的临床病理特征, 但因为肿瘤中确实存在一定数量HER2基因扩增的肿瘤细胞, 因此推测可能从赫赛汀靶向治疗中获益^[31]。Fusco等^[32]的研究显示在HER2阳性的胃癌患者中, HER2的异质性表达高达71%。韩国近期的一项关于胃癌HER2表达的研究显示, 局部异质性与HER2蛋白弱表达(IHC2+)密切相关, 在组织学上与肠型或混合型腺癌密切相关。该实验观察到44例银染原位杂交(silver in situ hybridization, SISH)病例中有5例具有遗传异质性, 其中4例基因扩增为阴性。具有遗传异质性病例与HER2基因扩增病例两者在临床病理研究中未发现显著差异($P>0.05$)。这种遗传异质性和17号染色体多倍体被认为是HER2基因未扩增病例中HER2蛋白弱表达(IHC2+)的原因^[33]。Lee等^[34]的最新研究显示HER2的异质性表达比同质性表达的无病生存期更长。而Seol等^[35]的研究认为HER2瘤内异质性的表达与靶向治疗耐药相关。因此有学者^[36]推荐将HER2的异质性表达情况写入FISH病理报告, 包括HER2扩增细胞所占的比例, 还需注明HER2扩增细胞是散在分布还是簇状分布, 以供临床医生参考。

基于胃癌HER2表达的高度异质性, 因此, 在条件具备的情况下应进行全面的多组织切片检测, 以免使患者错失靶向治疗的机会。

4 原发灶和转移灶HER2表达的一致性

通过比较胃癌原发灶和转移灶中HER2的表达, 发现原发灶和转移灶的表达具有高度一致性^[37-39]。一项FISH检测对比研究结果显示49例胃癌原发灶与淋巴结转移灶表达一致, 未发现不一致病例^[38]。但有学者提出该实验采用组织芯片, 可能低估了肿瘤的异质性, 尚需对肿瘤原发灶和转移灶进行更广泛的评估。当然亦有研究发现原发灶和转移灶不一致的情况, Kim等^[26]对325例胃癌进行研究, 他们首先选择了原发灶的3个不同区域进行检测, 发现HER2蛋白表达具有明显差异。随后对124例原发灶和区域淋巴结转移灶进行HER2蛋白检测, 发现27例存在不一致, 其中19例原发灶阴性, 而淋巴结转移灶HER2蛋白过表达(阳性转变), 8例原发灶HER2蛋白过表达, 而淋巴结转移灶HER2阴性(阴性转变)。FISH检测到5例不一致, 其中4例IHC检测HER2蛋白表达也不一致, 这些病例原发灶中无HER2基因

扩增, 但是转移灶中出现HER2基因扩增, 另1例为阴性转变。随后采用多张组织切片再分析, 4例阳性转变患者中3例原发灶和转移灶均存在HER2异质性扩增, 1例阴性转变病例在原发灶中存在HER2异质性扩增, 转移灶中无扩增。

既然原发灶和转移灶中HER2表达具有较高的一致性, 因此在不能获取原发灶的情况下, 转移灶的检测为晚期患者带来了希望。转移灶可否替代原发灶作为靶向治疗选择的依据, 还需大规模病例的深入研究。在少数不一致的病例中, 转移灶阳性转变的患者是否能在靶向治疗中获益同样有待于进一步研究。

5 内窥镜活检标本的HER2检测

因胃癌HER2表达的异质性, 活检取样未必是肿瘤HER2表达的典型区域, 因此有学者认为活检标本不适合用于胃癌HER2的检测。大样本研究显示HER2表达在黏膜层和黏膜下层未见明显差异($P<0.05$), 表明内窥镜活检标本用于胃癌HER2检测是可行的^[33]。评分指南将活检组织与外科手术标本区分开来, 将判定活检组织阳性(IHC3+)的标准定义为 ≥ 5 个肿瘤细胞膜着色^[18], 并得到了广泛的认同。但是, 关于活检标本的判读标准尚不完善, 还有待进一步研究。

正如Grabsch等^[40]在其文章中所述: “在积极倡导应用胃癌内窥镜活检标本HER2表达结果用于筛选靶向治疗患者之前, 应进行胃癌内窥镜活检标本和外科手术标本一致性的研究”。意大利学者对活检标本和外科手术标本HER2的表达做了对比研究, 结果显示活检标本和外科手术标本IHC和FISH的符合率分别为80%和95%, 两者具有较高的一致性, 但8%的病例不能用活检标本进行准确预测。该研究认为活检标本HER2表达的检测具有较高的预测价值; 对于活检标本IHC1+/2+的病例需进一步做FISH检测^[41]。另一项研究显示导致内窥镜活检标本和外科手术标本不一致的主要因素是HER2异质性^[42]。

为避免肿瘤的异质性对结果的影响, 活检标本应尽可能多点取材; 对于活检标本阴性的病例必要时可再次检测; 另外判读上要谨慎, 需排除HER2假阳性病例, 如边缘或坏死组织的着色、肿瘤细胞胞浆着色等。

6 HER2突变

HER2突变位点位于外显子18-21, 已知HER2共

有13种突变类型. Lee等^[43]研究58例有淋巴结转移的胃癌患者, 发现仅1例发生了*HER2*基因突变, 该患者*EGFR*、*K-RAS*、*PIK3CA*和*BRAF*基因未发生突变. 该实验证实胃癌并淋巴结转移患者偶发*HER2*突变, 其突变在胃癌转移中起一定作用. 近期研究发现, 在乳腺癌中存在少数*HER2*活化突变但无扩增的病例, 8种突变分别为G309A、D769H、D769Y、V777L、P780ins、V842I、R896C的激活突变, 755-759框内缺失. 该实验通过构建小鼠模型, 证实*HER2*突变小鼠可从赫赛汀靶向治疗中获益, 但结果还有待大规模临床研究的进一步研究. 同时该实验认为*HER2*突变是*HER2*扩增的一个替代机制, 同样具有促进肿瘤进展的作用^[44]. 虽然*HER2*突变患者比例很小, 不可否认的是这些病例可能是靶向治疗的获益者.

7 *HER2*作为胃癌的独立预后因素

*HER2*能否作为胃癌的独立预后因素尚存争议, 但*HER2*阳性对胃癌患者具有很高的预测价值, 在筛选患者以及选择最佳的治疗方案时获益匪浅^[45-47]. 早在20多年前, 科学家就已证实了*HER2*阳性与不良预后存在相关性^[48]. 但时至今日*HER2*阳性与预后的关系并未得到统一结论, 其原因是复杂多样的, 可能由于种族不同, 样本含量过小, *HER2*阳性的判定标准不一等. 近来, 多个研究小组进行大量回顾性研究, 试图从中确定两者之间的关系. 例如: Chua等^[49]系统回顾了有关*HER2*蛋白过表达对生存期影响的35项研究报告, 2项(6%)研究显示*HER2*蛋白过表达患者总体生存期明显延长, 13项(37%)研究显示*HER2*蛋白过表达患者总体生存期明显较差, 20项(57%)研究认为两者总体生存期无差异. 该作者认为*HER2*过表达与生存期差有联系^[25]. 随后, Jørgensen等^[50]进行大样本回顾性研究, 结果显示71%病例*HER2*阳性与不良预后相关, 该结果显著倾向于*HER2*阳性为胃癌预后不良的潜在因素. 国内大样本量的研究中, 发现*HER2*基因过表达是肠型胃癌和早期胃癌的独立预后因素^[27].

8 结论

*HER2*在胃癌领域的研究和发展为胃癌患者提供了新的治疗方案, 延长了患者生存期, 提高了患者的生活质量, 为胃癌患者带来新的希望. 靶向治疗取得最佳疗效实质在于精确的筛选患者以及避免明显的药物细胞不良反应^[51]. 因此对于

确诊的胃癌患者, 应积极进行*HER2*检测, 以指导选择最佳的治疗方案; 同时应客观认知*HER2*评分标准, 在实践中不断积累经验, 尽量减少判别错误.

9 参考文献

- 1 Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of *HER2* gene amplification in adenocarcinomas of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]
- 2 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 3 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965]
- 4 Shin HR, Masuyer E, Ferlay J, Curado MP. Cancer in Asia - Incidence rates based on data in cancer incidence in five continents IX (1998-2002). *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11 Suppl 2: 11-16 [PMID: 20553065]
- 5 D'Angelica M, Gonen M, Brennan MF, Turnbull AD, Bains M, Karpeh MS. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg* 2004; 240: 808-816 [PMID: 15492562 DOI: 10.1097/01.sla.0000143245.28656.15]
- 6 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of *HER2*-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 7 Tapia C, Glatz K, Novotny H, Lugli A, Horcic M, Seemayer CA, Tornillo L, Terracciano L, Spichtin H, Mirlacher M, Simon R, Sauter G. Close association between *HER-2* amplification and overexpression in human tumors of non-breast origin. *Mod Pathol* 2007; 20: 192-198 [PMID: 17361205 DOI: 10.1038/modpathol.3800729]
- 8 Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
- 9 Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of *HER-2/neu* protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1501-1506 [PMID: 21472111 DOI: 10.3748/wjg.v17.i11.1501]
- 10 Begnami MD, Fukuda E, Fregnani JH, Nonogaki S, Montagnini AL, da Costa WL, Soares FA. Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (*HERs*) in gastric carcinomas: *HER2* and *HER3* are predictors of poor outcome. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3030-3036 [PMID: 21709195 DOI:

■创新盘点

本文从病理专业角度, 简明扼要地介绍了*HER2*在胃癌检测中的评分标准、常见问题, 并对近年来的新进展和亟待解决问题做了全面的阐释.

■应用要点

对于临床医生来说,确诊的胃癌患者应积极进行HER2检测,以指导选择最佳的治疗方案;对病理医师来说,应客观认知HER2评分标准,在实践中不断积累经验,尽量减少判别错误。

- 10.1200/JCO.2010.33.6313]
- 11 Cho EY, Srivastava A, Park K, Kim J, Lee MH, Do I, Lee J, Kim KM, Sohn TS, Kang WK, Kim S. Comparison of four immunohistochemical tests and FISH for measuring HER2 expression in gastric carcinomas. *Pathology* 2012; 44: 216-220 [PMID: 22437741 DOI: 10.1097/PAT.0b013e31823513e8b]
- 12 Im SA, Kim JW, Kim JS, Kim MA, Jordan B, Pickl M, Han SW, Oh DY, Lee HJ, Kim TY, Kim WH, Yang HK, Bang YJ. Clinicopathologic characteristics of patients with stage III/IV (M0) advanced gastric cancer, according to HER2 status assessed by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* 2011; 20: 94-100 [PMID: 21532492 DOI: 10.1097/PDM.0b013e3181fc02b7]
- 13 Park YS, Hwang HS, Park HJ, Ryu MH, Chang HM, Yook JH, Kim BS, Jang SJ, Kang YK. Comprehensive analysis of HER2 expression and gene amplification in gastric cancers using immunohistochemistry and in situ hybridization: which scoring system should we use? *Hum Pathol* 2012; 43: 413-422 [PMID: 21855114 DOI: 10.1016/j.humpath.2011.05.019]
- 14 Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18: 53-59 [PMID: 21169738 DOI: 10.1097/PAP.0b013e3182026d72]
- 15 陈娟, 李东石, 余英豪, 王烈, 欧阳学农, 谢飞来, 熊喜生. Her-2蛋白在胃癌中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1375-1379
- 16 Yang J, Luo H, Li Y, Li J, Cai Z, Su X, Dai D, Du W, Chen T, Chen M. Intratumoral heterogeneity determines discordant results of diagnostic tests for human epidermal growth factor receptor (HER) 2 in gastric cancer specimens. *Cell Biochem Biophys* 2012; 62: 221-228 [PMID: 21927816 DOI: 10.1007/s12013-011-9286-1]
- 17 Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Rüschoff J, Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52: 797-805 [PMID: 18422971 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2008.03028.x]
- 18 Rüschoff J, Nagelmeier I, Baretton G, Dietel M, Höfler H, Schildhaus HU, Büttner R, Schlake W, Stoss O, Kreipe HH. [Her2 testing in gastric cancer. What is different in comparison to breast cancer?]. *Pathologe* 2010; 31: 208-217 [PMID: 20443098 DOI: 10.1007/s00292-010-1278-1]
- 19 Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-145 [PMID: 17159189 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.2775]
- 20 Ross JS. Update on HER2 testing for breast and upper gastrointestinal tract cancers. *Biomark Med* 2011; 5: 307-318 [PMID: 21657840 DOI: 10.2217/bmm.11.31]
- 21 Hofmann M, Stoss O, Gaiser T, Kneitz H, Heinmöller P, Gutjahr T, Kaufmann M, Henkel T, Rüschoff J. Central HER2 IHC and FISH analysis in a trastuzumab (Herceptin) phase II monotherapy study: assessment of test sensitivity and impact of chromosome 17 polysomy. *J Clin Pathol* 2008; 61: 89-94 [PMID: 17412870 DOI: 10.1136/jcp.2006.043562]
- 22 Kunz PL, Mojtahed A, Fisher GA, Ford JM, Chang DT, Balise RR, Bangs CD, Cherry AM, Pai RK. HER2 expression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a US population: clinicopathologic analysis with proposed approach to HER2 assessment. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20: 13-24 [PMID: 21617522 DOI: 10.1097/PAI.0b013e31821c821c]
- 23 Fox SB, Kumarasinghe MP, Armes JE, Bilous M, Cummings MC, Farshid G, Fitzpatrick N, Francis GD, McCloud PI, Raymond W, Morey A. Gastric HER2 Testing Study (GaTHER): an evaluation of gastric/gastroesophageal junction cancer testing accuracy in Australia. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 577-582 [PMID: 22314190 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318244adb]
- 24 Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, Ong CW, Pang B, Yeoh KG, Salto-Tellez M. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010; 63: 839-842 [PMID: 20696687 DOI: 10.1136/jcp.2010.076570]
- 25 钟山, 余英豪. 胃癌HER-2基因检测方法及其靶向治疗的研究现状. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2785-2789
- 26 Kim MA, Lee HJ, Yang HK, Bang YJ, Kim WH. Heterogeneous amplification of ERBB2 in primary lesions is responsible for the discordant ERBB2 status of primary and metastatic lesions in gastric carcinoma. *Histopathology* 2011; 59: 822-831 [PMID: 22092393 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.04012.x]
- 27 Liu W, Zhong S, Chen J, Yu Y. HER-2/neu overexpression is an independent prognostic factor for intestinal-type and early-stage gastric cancer patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: e31-e37 [PMID: 22064554 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31823457ea]
- 28 Sasaki H, Shimizu S, Endo K, Takada M, Kawahara M, Tanaka H, Matsumura A, Iuchi K, Haneda H, Suzuki E, Kobayashi Y, Yano M, Fujii Y. EGFR and erbB2 mutation status in Japanese lung cancer patients. *Int J Cancer* 2006; 118: 180-184 [PMID: 16003726 DOI: 10.1002/ijc.21301]
- 29 Pagni F, Zannella S, Ronchi S, Garanzini C, Leone BE. HER2 status of gastric carcinoma and corresponding lymph node metastasis. *Pathol Oncol Res* 2013; 19: 103-109 [PMID: 22907801 DOI: 10.1007/s12253-012-9564-2]
- 30 Vance GH, Barry TS, Bloom KJ, Fitzgibbons PL, Hicks DG, Jenkins RB, Persons DL, Tubbs RR, Hammond ME. Genetic heterogeneity in HER2 testing in breast cancer: panel summary and guidelines. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 611-612 [PMID: 19391661 DOI: 10.1043/1543-2165-133.4.611]
- 31 Ohlschlegel C, Zahel K, Kradolfer D, Hell M, Jochum W. HER2 genetic heterogeneity in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2011; 64: 1112-1116 [PMID: 22011446 DOI: 10.1136/jclinpath-2011-200265]
- 32 Fusco N, Rocco EG, Del Conte C, Pellegrini C, Bulfamante G, Di Nuovo F, Romagnoli S, Bosari S. HER2 in gastric cancer: a digital image analysis in pre-neoplastic, primary and metastatic lesions. *Mod Pathol* 2013; 26: 816-824 [PMID: 23348899 DOI: 10.1038/modpathol.2012.228]
- 33 Cho J, Jeong J, Sung J, Sung CO, Kim KM, Park CK, Choi MG, Sohn TS, Bae JM, Kim S. A Large Cohort of Consecutive Patients Confirmed Frequent HER2

- Positivity in Gastric Carcinomas with Advanced Stages. *Ann Surg Oncol* 2012 Dec 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23274580]
- 34 Lee HE, Park KU, Yoo SB, Nam SK, Park do J, Kim HH, Lee HS. Clinical significance of intratumoral HER2 heterogeneity in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1448-1457 [PMID: 23146959 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.10.018]
 - 35 Seol H, Lee HJ, Choi Y, Lee HE, Kim YJ, Kim JH, Kang E, Kim SW, Park SY. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance. *Mod Pathol* 2012; 25: 938-948 [PMID: 22388760 DOI: 10.1038/modpathol.2012.36]
 - 36 杨飞, 杨文涛, 步宏. 乳腺癌HER2检测中的新问题. *中华病理学杂志* 2012; 41: 289-292
 - 37 Bozzetti C, Negri FV, Lagrasta CA, Crafa P, Bassano C, Tamagnini I, Gardini G, Nizzoli R, Leonardi F, Gasparro D, Camisa R, Cavalli S, Silini EM, Ardizoni A. Comparison of HER2 status in primary and paired metastatic sites of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 104: 1372-1376 [PMID: 21487407 DOI: 10.1038/bjc.2011.121]
 - 38 Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Brümmendorf TH, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G. HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 2009; 40: 769-777 [PMID: 19269014 DOI: 10.1016/j.humpath.2008.11.014]
 - 39 Reichelt U, Duesedau P, Tsourlakis MCh, Quaas A, Link BC, Schurr PG, Kaifi JT, Gros SJ, Yekebas EF, Marx A, Simon R, Izbicki JR, Sauter G. Frequent homogeneous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinoma of the esophagus. *Mod Pathol* 2007; 20: 120-129 [PMID: 17143264 DOI: 10.1038/modpathol.3800712]
 - 40 Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20208134 DOI: 10.3233/CLO-2009-0497]
 - 41 Grillo F, Fassan M, Ceccaroli C, Giacometti C, Curto M, Zagonel V, Ceppa P, Nitti D, Castoro C, Fiocca R, Rugge M, Mastracci L. The Reliability of Endoscopic Biopsies in Assessing HER2 Status in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: A Study Comparing Biopsies with Surgical Samples. *Transl Oncol* 2013; 6: 10-16 [PMID: 23418612]
 - 42 Pirrelli M, Caruso ML, Di Maggio M, Armentano R, Valentini AM. Are biopsy specimens predictive of HER2 status in gastric cancer patients? *Dig Dis Sci* 2013; 58: 397-404 [PMID: 22918687 DOI: 10.1007/s10620-012-2357-3]
 - 43 Lee JW, Soung YH, Kim SY, Park WS, Nam SW, Kim SH, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. ERBB2 kinase domain mutation in a gastric cancer metastasis. *APMIS* 2005; 113: 683-687 [PMID: 16309427]
 - 44 Bose R, Kavuri SM, Searleman AC, Shen W, Shen D, Koboldt DC, Monsey J, Goel N, Aronson AB, Li S, Ma CX, Ding L, Mardis ER, Ellis MJ. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer. *Cancer Discov* 2013; 3: 224-237 [PMID: 23220880 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0349]
 - 45 Okines AF, Cunningham D. Trastuzumab in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1949-1959 [PMID: 20542421 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.05.003]
 - 46 Zhang XL, Yang YS, Xu DP, Qu JH, Guo MZ, Gong Y, Huang J. Comparative study on overexpression of HER2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009; 33: 2112-2118 [PMID: 19636613 DOI: 10.1007/s00268-009-0142-z]
 - 47 Jørgensen JT. Targeted HER2 treatment in advanced gastric cancer. *Oncology* 2010; 78: 26-33 [PMID: 20185938 DOI: 10.1159/000288295]
 - 48 Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 1034-1038 [PMID: 1670998]
 - 49 Chua TC, Merrett ND. Clinicopathologic factors associated with HER2-positive gastric cancer and its impact on survival outcomes--a systematic review. *Int J Cancer* 2012; 130: 2845-2856 [PMID: 21780108 DOI: 10.1002/ijc.26292]
 - 50 Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. *J Cancer* 2012; 3: 137-144 [PMID: 22481979 DOI: 10.7150/jca.4090]
 - 51 Fornaro L, Lucchesi M, Caparello C, Vasile E, Caponi S, Ginocchi L, Masi G, Falcone A. Anti-HER agents in gastric cancer: from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 369-383 [PMID: 21647199 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.81]

同行评价

本文是一篇有关病理专业对胃癌HER2检测方法综述,对胃癌HER2检测的方法标准、指导方针以及一些新观点进行综述。题目较新颖,论点清晰,文笔流畅,结论明确。参考文献较新。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展

高加林, 施晓雷

■背景资料

由于供肝短缺患者需等待时间较长以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用等问题的存在, 使得急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)患者在肝移植围手术期面临着各种各样的难题, 并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率。

高加林, 南京中医药大学 江苏省南京市 210000
施晓雷, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008
高加林, 主要从事普通外科的相关研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81170418
作者贡献分布: 本文综述由高加林完成; 施晓雷审校。
通讯作者: 施晓雷, 副教授, 博士生导师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科。
njsxl2000@163.com
收稿日期: 2013-09-22 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure

Jia-Lin Gao, Xiao-Lei Shi

Jia-Lin Gao, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China
Xiao-Lei Shi, Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170418
Correspondence to: Xiao-Lei Shi, Associate Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum-Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. njsxl2000@163.com
Received: 2013-09-22 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

Acute liver failure occurs abruptly with rapid progression. Traditional medical treatment and simple non-bioartificial liver support system cannot reverse the prognosis of acute liver failure (ALF), and liver transplantation is the only effective treatment. However, donor liver shortage, the need of a life-long immunosuppressive therapy as well as complex postoperative complications make ALF patients facing a variety of challenges in the perioperative period of liver transplantation, which are directly related to the success rate of surgery and the mortality. This article aims to discuss perioperative difficulties and preventive measures in liver transplantation for ALF by exploring how to extend the lives of patients before liver transplantation and how to deal with postoperative complications.

■同行评议者

郑素军, 副教授, 副主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute liver failure; Liver transplantation; Perioperative management; Advance

Gao JL, Shi XL. Perioperative management in liver transplantation for acute liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4104-4109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4104>

摘要

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)起病急、病情进展快, 传统的内科治疗及单纯的非生物人工肝治疗难以逆转ALF预后, 肝移植是目前临床唯一有效治疗手段, 但由于供肝短缺患者需等待时间较长, 以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用等问题的存在, 使得ALF患者在肝移植围手术期面临着各种各样的难题, 并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率。本文从术前如何延长患者生命以及术后并发症处理新进展两方面, 探讨ALF肝移植围手术期难点及其防治措施。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性肝衰竭; 肝移植; 围手术期; 进展

核心提示: 本文探讨急性肝衰竭(acute liver failure)肝移植围手术期难点及其防治措施。术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗, 在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能, 术后通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定。

高加林, 施晓雷: 急性肝衰竭肝移植围手术期治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4104-4109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4104>

0 引言

肝脏具有生物合成、解毒及代谢等功能, 是人

体重要器官。急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由于肝炎病毒、药物或其他各种原因,引发的急剧且广泛的肝细胞死亡、肝功能严重损害,导致大量内源性毒素和炎性介质在体内蓄积,进而影响各重要脏器功能,主要表现为黄疸、肝性脑病和凝血功能障碍等,具有起病急、进展快、病情复杂、病死率高等特点^[1]。传统的内科治疗及单纯的非生物人工肝治疗难以逆转ALF预后,肝移植是目前临床唯一有效治疗手段,经肝移植治疗后的重症肝病患者1年生存率在60%-90%。但由于供肝短缺患者需等待时间较长,ALF导致移植前肝脏功能损害严重、病情进展快,以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用,使得ALF患者在肝移植手术后面临着各种各样的问题^[2],并直接关系到肝移植手术成功率以及术后并发症的发生率、病死率。本文就ALF肝移植围手术期将会遇到的难点以及如何处理好这些问题做一综述。

1 ALF肝移植术前治疗

ALF病情凶险,短期内即出现肝性脑病等严重临床表现,自然死亡率高达80%以上^[1]。20世纪80年代中期肝移植开始应用于治疗急性肝功能衰竭,能明显提高这类患者的生存率,成为目前抢救这类患者唯一有效的手段,但存在供肝短缺等难题^[3]。因此,ALF肝移植术前治疗措施主要围绕着延长患者生存时间以等待合适供肝这一焦点,包括内科治疗、细胞移植以及人工肝支持系统等。

1.1 内科治疗 目前ALF的内科治疗尚缺乏特效药物和手段,主张早期诊断、早期治疗,在一般支持治疗的基础上针对不同病因采取相应的治疗措施,如对HBV DNA阳性的ALF患者采用核苷类似物(拉米夫定、恩替卡韦等),对药物性ALF首先停用可能导致肝损害的药物,对毒覃中毒患者使用飞蓟素或青霉素G以及使用促肝细胞生长素和前列腺素E1脂质体等药物促进肝细胞再生等;此外,还需积极防治肝性脑病、脑水肿及感染等各种并发症。

1.2 细胞移植 肝细胞移植(hepatocyte transplantation, HCT)是将正常成年肝细胞、不同发育阶段的肝细胞、肝潜能细胞、修饰型肝细胞以及相关生长刺激因子,通过不同途径移植到受体适当的靶位,使之定居、增殖、重建肝组织结构,并发挥正常肝功能的肝组织工程学手段^[4]。

早在上世纪初期,就有众多学者设想通过移

植健康的细胞或脏器碎片来治疗严重肝及代谢性疾病,但直到机械和酶消化结合分离肝细胞获得成功,及改良原位两步酶灌注分离技术的出现,大量高度纯化的肝细胞可以快速方便的取得,肝细胞移植才获得实质性进展。而其研究方向正是将肝脏细胞移植技术应用于临床,使之成为治疗肝脏疾病的一种有效手段,并有可能替代因供肝缺乏而受到限制的肝移植。对于等待肝移植的患者,可接受简便的肝细胞移植,防止肝功能衰竭。

目前报道的有肝细胞移植临床研究约40余例^[5-10],研究发现早期肝细胞移植对急性肝衰竭治疗有效,肝细胞移植能改善肝性脑病,降低血氨和胆红素水平,但不能改善患者生存率,其中18例急性肝衰竭患者在接受了肝细胞移植后有6例患者成功过渡至原位肝移植。研究结果表明,肝细胞移植在肝衰竭的治疗中发挥了重要作用,他既有可能使某些患者完全恢复肝功能,又可对等待肝移植的患者起到桥梁治疗作用,但目前仍处于研究阶段,且存在免疫排斥、肝细胞来源缺乏等难题;相比之下,干细胞能自我复制且具有分化潜能,能诱导定向分化成肝细胞^[11],较肝细胞有更小的免疫排斥可能,可用于细胞移植治疗ALF,目前干细胞移植治疗在动物模型及早期临床实验中取得了部分成功^[12,13],但仍需探索更成熟的干细胞分离、纯化、鉴定、培养以及分化技术,移植的最佳时机,移植后干细胞转归以及是否具有致瘤性等问题,有待进一步研究。

1.3 人工肝支持系统 人工肝支持系统(artificial liver support system, ALSS)是指用人工方式代替ALF患者肝功能,为患者提供支持治疗的装置与方法^[14]。体外ALSS分为非生物人工肝(non bio-artificial liver, NBAL)和生物人工肝(bioartificial liver, BAL)。NBAL是通过血液透析、血液滤过、血液灌流、血浆置换及白蛋白透析等办法,去除血中的水溶性及脂溶性毒素如氨、胆红素及各种炎症因子等,从而改善ALF患者的各项指标,从而达到治疗的目的,但无法替代肝脏的合成分泌及生物转化功能。1986年Demetriou^[15]教授首次提出了BAL的概念,即由肝细胞和人工解毒装置共同组成的循环系统,该系统不仅有NBAL的清除毒素的作用,还能发挥肝细胞的合成和代谢功能,是治疗ALF的有效手段之一。

目前进入临床试验的BAL主要有:(1)采用微粒包裹冻存过的猪肝细胞和中空纤维管式反

■ 研发前沿

肝移植手术技术越来越成熟,许多肝移植中心的手术成功率超过90%,5年生存率>70%,围手术期处理也逐渐标准化,但仍存在一些处理上的难点,一方面是术前如何延长患者生存时间以等待供肝;另一方面则是如何处理好移植肝无功能、病毒再感染及胆道并发症等围手术期难题。

■相关报道

施晓雷等研究发现干细胞能自我复制且具有分化潜能,能诱导定向分化成肝细胞;Horwitz及Masuda等研究发现干细胞较肝细胞有更小的免疫排斥可能,可用于细胞移植治疗ALF,目前干细胞移植治疗在动物模型及早期临床实验中取得了部分成功。

应器的HepatAssit,在美国和20个临床医疗中心的171例包括爆发性肝衰和无功能移植肝患者的随机临床试验中,患者以1:1随机分为标准内科治疗组和HepatAssit治疗组,结果显示HepatAssit不能改善患者生存率,但能显著降低ALF患者的移植前风险,提高HepatAssit治疗后肝移植患者的生存率^[16-19]; (2)采用C3A细胞株和中空纤维管式反应器的ELAD(extracorporeal liver assist device),在Millis等^[20]的随机对照试验中,ELAD治疗组12例有11例(92%)最终顺利过渡至肝移植,而对照组7例只有3例(43%)安全过渡至肝移植,有统计学差异,显示ELAD治疗在作为肝移植桥接手段上有着显著作用,ELAD的临床试验已于07年在我国正式启动; (3)采用猪肝细胞和中空纤维管式反应器的BLSS(bioartificial liver support system),在I期临床试验中,Mazaregios报道^[21],4例急性肝衰竭患者都能耐受治疗且血胆红素和血氨都有所下降,其主要不良反应是治疗过程中可能会发生的低血压,且未发现猪逆转录病毒PERV(porcine endogenous retrovirus)感染; (4)由荷兰阿姆斯特丹大学研究人员研发的AMC-BAL(Amsterdam Medical Center-Bioartificial Liver),成功将11例患者过渡到肝移植,所有患者均耐受治疗且血氨、血胆红素以及神经系统功能均得到改善^[22]; (5)德国柏林Gerlach小组在1996年研发的MELS模块型体外肝支持系统(modular extracorporeal liver support system, MELS),在8例ALF患者参与的I期临床试验中显示,患者对治疗过程能较好地耐受,血小板减少是观察到的唯一的不良反应,所有患者均成功过渡到肝移植,其中有3例患者生活了3年,且所有患者均未观察到PERV感染^[23]; (6)南京大学医学院附属鼓楼医院自行研发的新型生物人工肝支持系统,该系统采用猪肝细胞与骨髓间充质干细胞的2:1共培养体系为细胞材料^[24],并结合自主研发的基于壳聚糖纳米纤维支架的多层平板式生物反应器^[25],最初应用于38例肝功能衰竭患者共48例次的治疗后统计结果是:临床治愈9例,好转25例,其中7例患者经顺利过渡到肝移植,并完善了异种细胞的病毒和免疫安全性评估,未发现PERV传播及免疫排斥风险^[26]。以上临床研究显示,BAL能改善终末期肝病患者神经系统状态和生化指标,延长患者生存时间,顺利过渡至肝移植,但未能证明在生存率方面的改善。目前BAL仍有一些问题尚待优化,例如如何获得足量有功能的细胞材料,如何优化细

胞体外培养环境及能使肝细胞长期稳定生存的生物反应器的研制等。

2 ALF肝移植术后处理

肝移植术后面临的主要问题是保持移植肝长期稳定的功能发挥和提高患者的长期生活质量。肝移植术后并发症主要有移植肝功能障碍或无功能、感染、胆道并发症、血管并发症及肾功能不全等。ALF肝移植术后围手术期处理的难点和焦点主要集中在移植肝功能丧失、病毒再感染及胆道并发症等常见并发症的防治上。

2.1 移植肝功能丧失 术后早期移植肝无功能的发生是多因素所致,包括供体相关因素、取肝及保存相关因素、受者相关因素等。供体相关危险因素包括:供体年龄>50岁^[27],供肝活检发现脂肪肝(>30%)^[28],供体有严重的高钠血症(血清钠超过170 mmol/L)^[29]及保存时间>18 h^[30-32]。受体因素也是影响术后移植肝无功能的重要因素,主要有免疫反应、免疫抑制药物的使用及病毒再感染等,若出现无法解释的移植肝无功能,则可能是宿主免疫反应。临床评估对辨别移植肝功能丧失有重要意义,移植肝无功能的患者往往在肝移植术后早期即出现急性肝功能衰竭(肝性脑病、腹水、凝血异常、不稳定的血流动力学)、肝酶谱升高和继发性多器官功能衰竭等表现,而肝性脑病的好转、尿量充足以及不存在代谢性酸中毒等则预示移植肝功能正常^[26]。另外,在大量输血的患者,出现代谢性碱中毒是移植肝功能不良的敏感指标,其原因是移植肝不能将库存血中的枸橼酸盐代谢为碳酸氢盐^[33]。

对移植肝无功能尚无有效的治疗方法,移植肝功能丧失一般是不可逆的,患者的生存只能寄希望于早期再移植。文献报道,发生原发性移植肝无功能需要再次移植的比例为6.9%-8.5%。预防缺血再灌注损伤可降低早期移植肝功能丧失的可能性^[34],抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理是其主要手段^[31,32],其作用机制可能与抑制促细胞凋亡相关蛋白表达有关^[35-37]。

2.2 病毒再感染 在我国,ALF中慢性肝病急性衰竭占大多数,且多由病毒性肝炎肝硬化发展而来,HBV再感染是移植肝功能丧失及患者死亡的重要原因,HBV再感染后,病毒复制较移植前大量增加,可以迅速导致持续的移植肝功能损害、肝硬化及肝功能衰竭,最终导致患者死亡或再次肝移植,严重影响了肝移植的远期疗效^[38]。病毒再感染的影响因素很多,现普遍认为移植

后免疫抑制剂的应用、术前病毒复制状态、病毒基因型、术后乙型肝炎复发预防方案、排斥反应等^[39]。因此, 如何预防并处理HBV/HCV的复发是ALF肝移植术后一大难题。

目前研究认为, 肝移植术后HBsAg在血液中再次出现为HBV再感染的标志, HBcAg与HBV DNA阳性为HBV高复制状态的标志。在约20年前, 由于缺乏有效预防措施, HBV再感染的发生率可达到75%, 平均再感染时间在术后3.2 mo^[40]; 而在采用大剂量静脉注射HBIg联合拉米夫定预防后, 病毒再感染发生率降至10%以下, 且再感染时间一般出现在术后1年内^[38,41,42]。对于存在术后HBV再感染高危因素如术前HBeAg阳性患者, 可在术后早期加大HBIg用量, 确保HBsAb浓度>200 IU/L, 可有效降低肝移植术后HBV再感染率。另外, 对于合并有HDV感染的HBV患者, 移植术后HBV再感染率较低, 其原因是HDV抑制了HBV的复制^[38]。HCV再感染在肝移植术后患者也很常见, 术后9 d是HCV复制高发期^[43], Samuel等^[44]发现丙肝移植术后患者HCV抗原在20 d内检出率为37%, 而在术后6 mo达90%, 其主要影响因素为术前HCV的病毒量^[45], 干扰素和利巴韦林治疗肝移植术后HCV病毒感染的持续病毒学应答率(sustained virological response, SVR)为10%-30%, 派罗欣和利巴韦林治疗其SVR可以达到25%-45%, 能有效降低HCV复制水平^[46]。

另一方面, 由于至今尚缺乏有效的指标来指导用药, 术后免疫抑制药物使用不当也是导致移植术后病毒复发的一个重要原因^[47]。近年来, 在临床肝移植工作中有学者发现约20%左右的肝移植受体在停用免疫抑制剂后肝脏功能仍保持稳定且能够长期存活, 这种现象被称为临床可操作性免疫耐受(clinical operational tolerance, COT)^[48], 通过基因筛查指导临床个体化用药最终实现COT的研究, 或许可使移植患者降低术后病毒再复发及移植肝无功能的可能性, 并脱离长期服用免疫抑制剂所带来的感染和肿瘤的风险。

2.3 胆道并发症 肝移植术后胆道并发症主要有胆漏、胆道狭窄和胆道结石等, 其中胆漏在围手术期多见, 发生率为4.3%^[49], 通常是由外科吻合口破裂、肝动脉血栓形成引起的缺血性损伤或拔出T管引起^[50]。胆漏的症状和体征包括引流见胆汁样液体、腹痛和/或肩部疼痛、胆红素升高、恶心、呕吐及发热等。多数情况下, 超声诊断并不能直接提示胆漏^[51], 超声引导下穿刺可帮

助诊断; 胆道核素扫描是无创的检查技术, 但仅能发现较大的胆汁渗漏; 若胆总管内留置导管, 胆道造影可以明确诊断^[52]。移植后若发现胆漏应积极处理, 予以超声引导下穿刺置管引流或经内镜下置管引流等处理, 保守治疗无效者, 需手术治疗或二次肝移植^[53]。胆道狭窄及梗阻、胆道结石等胆道并发症多发生于移植后晚期。胆道狭窄和结石者多采用内镜下介入治疗, 放置胆道支架, 疗效不理想时改为手术治疗; 围手术期也可见胆道梗阻, 多继发于水肿, 一般保守治疗。

3 结论

近年来, 肝移植手术技术越来越成熟, 我国肝移植数量增长迅速, 许多肝移植中心的手术成功率超过90%, 5年生存率>70%, 围手术期处理也逐渐标准化, 但仍存在一些处理上的难点, 一方面是术前如何延长患者生存时间以等待供肝, 另一方面则是如何处理好移植肝无功能、病毒再感染及胆道并发症等围手术期难题。随着临床及科研的不断进步, 可以预见: 术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗, 改善患者相关指标, 起到桥梁治疗作用, 使患者顺利过渡至肝移植; 在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能; 术后, 通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定, 充分避免术后并发症的发生, 保证患者的远期存活率。这些都让我们拭目以待。

4 参考文献

- 1 Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med* 1993; 329: 1862-1872 [PMID: 8305063 DOI: 10.1056/NEJM199312163292508]
- 2 Millis JM, Losanoff JE. Technology insight: liver support systems. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 398-405; quiz 434 [PMID: 16265430 DOI: 10.1038/ncpgasthep0254]
- 3 Harper AM, Rosendale JD, McBride MA, Cherikh WS, Ellison MD. The UNOS OPTN waiting list and donor registry. *Clin Transpl* 1998; 73-90 [PMID: 10503086]
- 4 Rust C, Gores GJ. Hepatocyte transplantation in acute liver failure: a new therapeutic option for the next millennium? *Liver Transpl* 2000; 6: 41-43 [PMID: 10648576 DOI: 10.1002/lt.500060115]
- 5 Mito M, Kusano M, Kawaura Y. Hepatocyte transplantation in man. *Transplant Proc* 1992; 24: 3052-3053 [PMID: 1466053]
- 6 Strom SC, Fisher RA, Thompson MT, Sanyal AJ, Cole PE, Ham JM, Posner MP. Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation* 1997; 63: 559-569 [PMID: 9047152 DOI: 10.1097/00007890-199702270-00014]
- 7 Strom SC, Fisher RA, Rubinstein WS, Barranger

■创新盘点

由于供肝短缺患者需等待时间较长, ALF导致移植前肝脏功能损害严重、病情进展快, 以及移植后复杂的术后并发症、免疫抑制剂和抗生素的大量使用, 使得患者在肝移植手术前后面临着很多问题。本文从术前延长患者生命以及术后并发症处理新进展两方面, 探讨ALF肝移植围手术期难点及其防治措施。

■应用要点

术前采用细胞移植或生物人工肝支持治疗,改善患者相关指标,起到桥梁治疗作用,使患者顺利过渡至肝移植;在供肝则采用抗氧化和细胞保护治疗等缺血预处理方式充分保障移植肝的功能;术后,通过免疫抑制剂个体化用药及围手术期处理相关规范的制定,充分避免术后并发症的发生,保证患者的远期存活率。

- JA, Towbin RB, Charron M, Miele L, Pisarov LA, Dorko K, Thompson MT, Reyes J. Transplantation of human hepatocytes. *Transplant Proc* 1997; 29: 2103-2106 [PMID: 9193547 DOI: 10.1016/S0041-1345(97)00252-2]
- 8 Strom SC, Chowdhury JR, Fox IJ. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 39-48 [PMID: 10349682 DOI: 10.1055/s-2007-1007096]
- 9 Bilir BM, Guinette D, Karrer F, Kumpe DA, Krysl J, Stephens J, McGavran L, Ostrowska A, Durham J. Hepatocyte transplantation in acute liver failure. *Liver Transpl* 2000; 6: 32-40 [PMID: 10648575 DOI: 10.1002/lt.500060113]
- 10 Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, Taher-Uz Z. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation* 1994; 58: 951-952 [PMID: 7940741 DOI: 10.1097/00007890-199410270-00016]
- 11 Shi XL, Mao L, Xu BY, Xie T, Zhu ZH, Chen JH, Li L, Ding YT. Optimization of an effective directed differentiation medium for differentiating mouse bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocytes in vitro. *Cell Biol Int* 2008; 32: 959-965 [PMID: 18486499 DOI: 10.1016/j.cellbi.2008.04.013]
- 12 Horwitz EM, Maziarz RT, Kebriaei P. MSCs in hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: S21-S29 [PMID: 21195306 DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.11.026]
- 13 Masuda S, Ageyama N, Shibata H, Obara Y, Ikeda T, Takeuchi K, Ueda Y, Ozawa K, Hanazono Y. Cotransplantation with MSCs improves engraftment of HSCs after autologous intra-bone marrow transplantation in nonhuman primates. *Exp Hematol* 2009; 37: 1250-1257.e1 [PMID: 19638293 DOI: 10.1016/j.exphem.2009.07.008]
- 14 Onodera K, Sakata H, Yonekawa M, Kawamura A. Artificial liver support at present and in the future. *J Artif Organs* 2006; 9: 17-28 [PMID: 16614798 DOI: 10.1007/s10047-005-0320-1]
- 15 Demetriou AA, Whiting J, Levenson SM, Chowdhury NR, Schechner R, Michalski S, Feldman D, Chowdhury JR. New method of hepatocyte transplantation and extracorporeal liver support. *Ann Surg* 1986; 204: 259-271 [PMID: 3530153 DOI: 10.1097/0000658-198609000-00005]
- 16 Demetriou AA, Rozga J, Podesta L, Lepage E, Morsiani E, Moscioni AD, Hoffman A, McGrath M, Kong L, Rosen H. Early clinical experience with a hybrid bioartificial liver. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1995; 208: 111-117 [PMID: 7777790 DOI: 10.3109/00365529509107771]
- 17 Coffman KL, Hoffman A, Rosenthal P, Demetriou A, Makowka L. Neurological and psychological sequelae in transplant recipients after bridging with the bioartificial liver. *Gen Hosp Psychiatry* 1996; 18: 20S-24S [PMID: 8937919 DOI: 10.1016/S0163-8343(96)00080-1]
- 18 Watanabe FD, Shackleton CR, Cohen SM, Goldman DE, Arnaout WS, Hewitt W, Colquhoun SD, Fong TL, Vierling JM, Busuttill RW, Demetriou AA. Treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure with a bioartificial liver. *Transplant Proc* 1997; 29: 487-488 [PMID: 9123096 DOI: 10.1016/S0041-1345(96)00219-9]
- 19 Detry O, Arkadopoulos N, Ting P, Kahaku E, Watanabe FD, Rozga J, Demetriou AA. Clinical use of a bioartificial liver in the treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure. *Am Surg* 1999; 65: 934-938 [PMID: 10515538]
- 20 Millis JM, Cronin DC, Johnson R, Conjeevaram H, Faust TW, Trevino S, Conlin C, Brotherton J, Traglia D, Maguire P, Dane G. Bioartificial liver support: report of the longest continuous treatment with human hepatocytes. *Transplant Proc* 2001; 33: 1935 [PMID: 11267578 DOI: 10.1016/S0041-1345(00)02719-6]
- 21 Mazariegos GV, Patzer JF, Lopez RC, Giraldo M, Devera ME, Grogan TA, Zhu Y, Fulmer ML, Amiot BP, Kramer DJ. First clinical use of a novel bioartificial liver support system (BLSS). *Am J Transplant* 2002; 2: 260-266 [PMID: 12096789 DOI: 10.1034/j.1600-6143.2002.20311.x]
- 22 van de Kerkhove MP, Di Florio E, Scuderi V, Mancini A, Belli A, Bracco A, Dauri M, Tisone G, Di Nicuolo G, Amoroso P, Spadari A, Lombardi G, Hoekstra R, Calise F, Chamuleau RA. Phase I clinical trial with the AMC-bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 950-959 [PMID: 12456036]
- 23 Sauer IM, Zeilinger K, Pless G, Kardassis D, Theruvath T, Pascher A, Goetz M, Neuhaus P, Gerlach JC. Extracorporeal liver support based on primary human liver cells and albumin dialysis—treatment of a patient with primary graft non-function. *J Hepatol* 2003; 39: 649-653 [PMID: 12971979]
- 24 Gu J, Shi X, Zhang Y, Chu X, Hang H, Ding Y. Establishment of a three-dimensional co-culture system by porcine hepatocytes and bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Hepatol Res* 2009; 39: 398-407 [PMID: 19207578 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00472.x]
- 25 Chu XH, Shi XL, Feng ZQ, Gu JY, Xu HY, Zhang Y, Gu ZZ, Ding YT. In vitro evaluation of a multi-layer radial-flow bioreactor based on galactosylated chitosan nanofiber scaffolds. *Biomaterials* 2009; 30: 4533-4538 [PMID: 19500837 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.05.020]
- 26 施晓雷, 韩冰, 郑以山, 张悦, 肖江强, 任昊桢, 马虎成, 杨永锋, 赵伟, 丁义涛. 新型多层平板型生物人工肝体外支持系统治疗肝功能衰竭的临床研究. *中华器官移植杂志* 2012; 33: 212-216
- 27 Brokelman W, Stel AL, Ploeg RJ. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation in the University of Wisconsin solution era. *Transplant Proc* 1999; 31: 2087-2090 [PMID: 10455977 DOI: 10.1016/S0041-1345(99)00270-5]
- 28 Figueras J, Busquets J, Grande L, Jaurrieta E, Perez-Ferreiro J, Mir J, Margarit C, Lopez P, Vazquez J, Casanova D, Bernardos A, De-Vicente E, Parrilla P, Ramon JM, Bou R. The deleterious effect of donor high plasma sodium and extended preservation in liver transplantation. A multivariate analysis. *Transplantation* 1996; 61: 410-413 [PMID: 8610352 DOI: 10.1097/00007890-199602150-00016]
- 29 Lindell SL, Hansen T, Rankin M, Danielewicz R, Belzer FO, Southard JH. Donor nutritional status—a determinant of liver preservation injury. *Transplantation* 1996; 61: 239-247 [PMID: 8600631 DOI: 10.1097/00007890-199601270-00014]
- 30 Nakano H, Boudjema K, Jaeck D, Alexandre E, Imbs P, Chenard MP, Nagasaki H, Kumada K, Wolf P, Cinqualbre J. Amelioration of hepatocellular integrity and inhibition of sinusoidal oxidative stress by N-acetylcysteine pretreatment in cold ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Eur Surg Res* 1996; 28: 245-255 [PMID: 8813648 DOI: 10.1159/000129463]
- 31 Qing D, Han B. Tolerance limits of liver grafts with 30 minutes of warm ischemia to cold preservation

- in swine. *Transplant Proc* 2005; 37: 409-412 [PMID: 15808661 DOI: 10.1016/j.transproceed.2004.11.064]
- 32 Muiesan P, Girlanda R, Jassem W, Melendez HV, O'Grady J, Bowles M, Rela M, Heaton N. Single-center experience with liver transplantation from controlled non-heartbeating donors: a viable source of grafts. *Ann Surg* 2005; 242: 732-738 [PMID: 16244548]
 - 33 Gerlach H, Gossé F, Rossaint R, Bechstein WO, Neuhaus P, Falke KJ. [The relevance of perioperative coagulation parameters to indications for blood transfusion. A retrospective analysis of 300 liver transplantations]. *Anaesthesist* 1994; 43: 168-177 [PMID: 8179166]
 - 34 Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, Büchler M, Schemmer P, Müller M. Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surg* 2012; 2012: 176723 [PMID: 22693364 DOI: 10.1155/2012/176723]
 - 35 Kamo N, Shen XD, Ke B, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Sotrastaurin, a protein kinase C inhibitor, ameliorates ischemia and reperfusion injury in rat orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 2499-2507 [PMID: 21883905 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03700.x]
 - 36 Yeh CH, Hsu SP, Yang CC, Chien CT, Wang NP. Hypoxic preconditioning reinforces HIF- α -dependent HSP70 signaling to reduce ischemic renal failure-induced renal tubular apoptosis and autophagy. *Life Sci* 2010; 86: 115-123 [PMID: 19962996 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.11.022]
 - 37 Glanemann M, Strenziok R, Kuntze R, Münchow S, Dikopoulos N, Lippek F, Langrehr JM, Dietel M, Neuhaus P, Nussler AK. Ischemic preconditioning and methylprednisolone both equally reduce hepatic ischemia/reperfusion injury. *Surgery* 2004; 135: 203-214 [PMID: 14739856 DOI: 10.1016/j.surg.2003.08.011]
 - 38 McCaughan GW. Prevention of post liver transplant HBV recurrence. *Hepatol Int* 2011 Aug 10. [Epub ahead of print] [PMID: 22020819 DOI: 10.1007/s12072-011-9293-8]
 - 39 Roche B, Samuel D. Hepatitis: viral load predicts HBV recurrence after liver transplant. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 657-658 [PMID: 21124520 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.165]
 - 40 Samuel D, Muller R, Alexander G, Fassati L, Ducot B, Benhamou JP, Bismuth H. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1993; 329: 1842-1847 [PMID: 8247035 DOI: 10.1056/NEJM199312163292503]
 - 41 Steinmüller T, Seehofer D, Rayes N, Müller AR, Settmacher U, Jonas S, Neuhaus R, Berg T, Hopf U, Neuhaus P. Increasing applicability of liver transplantation for patients with hepatitis B-related liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 1528-1535 [PMID: 12029640 DOI: 10.1053/jhep.2002.33681]
 - 42 Sousa JM, Pareja F, Serrano J, Gómez MA, García I, Tamayo MJ, Díaz C, Martín C, Pascasio JM, Hinojosa R, Pérez-Bernal JB, Cañas E, Sayago M, Bernardos A. Comparison between levels of anti-HBs with a fixed administration dose of HBIG and a combination of HBIG and lamivudine for the prophylaxis of hepatitis B after liver transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 723-724 [PMID: 12644112]
 - 43 Saraf N, Fiel MI, Deboccardo G, Emre S, Schiano TD. Rapidly progressive recurrent hepatitis C virus infection starting 9 days after liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 913-917 [PMID: 17539015 DOI: 10.1002/lt.21188]
 - 44 Samuel D, Forns X, Berenguer M, Trautwein C, Burroughs A, Rizzetto M, Trepo C. Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, January 12-14, 2006). *J Hepatol* 2006; 45: 127-143 [PMID: 16723165 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.001]
 - 45 Roche B, Samuel D. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 2007; 14 Suppl 1: 89-96 [PMID: 17958649 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2007.00920.x]
 - 46 Marino M, Iemmolo RM, Montalti R, Bertolotti M, Di Benedetto F, De Ruvo N, Cautero N, Guerrini G, De Blasiis MG, Gerunda GE. Predictive factors of lack of response to antiviral therapy among in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 1223-1225 [PMID: 20534266 DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.03.052]
 - 47 Ousteky DH, Riera AR, Rothstein KD. Long-term management of the liver transplant recipient: pearls for the practicing gastroenterologist. *Gastroenterol Clin North Am* 2011; 40: 659-681 [PMID: 21893279 DOI: 10.1016/j.gtc.2011.06.006]
 - 48 Trotter JF, O'Grady J. Operational tolerance after liver transplantation: raising the bar or tripping up? *Am J Transplant* 2010; 10: 2193-2194 [PMID: 20840484 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03252.x]
 - 49 Singh AK, Nachiappan AC, Verma HA, Uppot RN, Blake MA, Saini S, Boland GW. Postoperative imaging in liver transplantation: what radiologists should know. *Radiographics* 2010; 30: 339-351 [PMID: 20228321 DOI: 10.1148/rg.302095124]
 - 50 Wojcicki M, Silva MA, Jethwa P, Gunson B, Bramhall SR, Mayer D, Buckels JA, Mirza DF. Biliary complications following adult right lobe ex vivo split liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 839-844 [PMID: 16628692 DOI: 10.1002/lt.20729]
 - 51 Xu X, Wei X, Ling Q, Wang K, Bao H, Xie H, Zhou L, Zheng S. Inaccurate preoperative imaging assessment on biliary anatomy not increases biliary complications after living donor liver transplantation. *Eur J Radiol* 2012; 81: e457-e460 [PMID: 21641138 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.05.008]
 - 52 Tarantino I, Barresi L, Petridis I, Volpes R, Traina M, Gridelli B. Endoscopic treatment of biliary complications after liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4185-4189 [PMID: 18636664]
 - 53 Holt AP, Thorburn D, Mirza D, Gunson B, Wong T, Haydon G. A prospective study of standardized nonsurgical therapy in the management of biliary anastomotic strictures complicating liver transplantation. *Transplantation* 2007; 84: 857-863 [PMID: 17984838]

同行评价

本文有较高的学术价值, 对临床有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



炎症性肠病血清学标志物的研究进展

王建强, 黄缘

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因及发病机制尚不清楚, 诊断主要依靠临床表现、实验室和放射性检查、内镜及病理学检查。研究发现, 特异性血清学标志物的检测对IBD诊断及鉴别诊断具有重要的指导价值。因此, 了解特异性血清学标志物可提高临床医生对IBD的诊断。

王建强, 黄缘, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

王建强, 在读硕士, 主要从事肝脏及胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由黄缘设计; 文献收集与写作由王建强完成; 黄缘审校。

通讯作者: 黄缘, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科。huang9815@yahoo.com 电话: 0791-86292163

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-11-09

接受日期: 2013-11-25 在线出版日期: 2013-12-28

Serological markers of inflammatory bowel disease

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Yuan Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. huang9815@yahoo.com

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-11-09

Accepted: 2013-11-25 Published online: 2013-12-28

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an intestinal inflammatory disease of unknown etiology with two main distinguishable entities, Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). Current diagnosis of IBD relies on the clinical, endoscopic, radiological, histological and biochemical features, but these approaches have shortcomings, especially in cases of overlapping symptoms of CD and UC. The detection of serological markers can improve the diagnosis of IBD, because an aberrant immune response against microbial or endogenous antigens in a genetically susceptible host seems to be implicated in IBD pathogenesis. Current evidence suggests that the detection of serum immunology markers is useful in differential diagnosis of CD versus UC and can be a valuable aid in stratifying patients according to disease phenotype and risk of complications.

colitis; Crohn's disease; Serological markers

Wang JQ, Huang Y. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4110-4115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4110>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是病因未明的肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。目前, IBD的诊断需要结合临床表现、实验室和放射性检查、内镜及病理学检查。但这些方法都有其局限性, 尤其是针对和UC、CD具有相似临床表现或类似特征的肠道或其他系统疾病。血清免疫学标志物的检测可以提高IBD的诊断, 因为易感宿主体内, 针对微生物和内源性抗原的异常免疫反应是IBD发生的病理机制。研究表明, 血清学标志物的检测对于UC和CD的鉴别诊断具有重要的意义, 并将是患者疾病分型及严重程度的宝贵依据。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 血清学标志物

核心提示: 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因及发病机制不明, 其诊断及鉴别诊断是临床研究热点。众多基础及临床研究发现, 特异性血清学标志物的检测对IBD的诊断具有重要的指导价值。本文综述了与IBD有关的血清学标志物的研究进展, 为临床实验室检查提供了理论基础, 为探讨IBD的病因及发病机制提供了新方向。

王建强, 黄缘. 炎症性肠病血清学标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4110-4115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4110>

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)

专指病因未明的IBD, 临床表现有腹痛、血便和消化不良等。主要亚型包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。UC和CD的临床表现相似, 但在组织学和内镜检查方面存在很大差异^[1-4]。

一般而言, IBD主要发生在青春期至30岁之间, 约10%的患者发生在18岁以下^[5]。目前, IBD的诊断依靠临床表现、内镜、放射性检查和实验室检查, 以排除具有相似临床表现的非IBD患者。大多数病例中, UC或CD的诊断依赖于内镜和组织活检^[3,6-8]。尽管拥有多种诊断方法, 仍有5%-15%的结肠病变患者诊断不明确, 而此类患者的临床表现既有UC的特征, 又有CD的特征, 即结肠IBD类型待定(colonic IBD type unclassified, IBDU), 其中的80%最终被诊断为UC或CD^[2,9,10]。

越来越多的证据表明, IBD的发生是由于易感宿主在共生肠道菌群的刺激下, 肠道黏膜免疫系统异常反应所导致^[4,11-14]。但是, 目前打破肠道菌群免疫耐受和免疫防御的刺激因子仍未被发现。IBD患者的血清免疫学反应, 包括抗酿酒酵母抗体(anti-saccharomices cerevisiae, ASCA)、抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(anti-outer membrane porin C, anti-Omp C)、I2抗体(anti-I2)等抗体, 提示共生菌群可能是一刺激因子。另一方面, IBD患者有其肠外表现(如皮肤炎、外周关节炎等), 且血清学抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)、抗胰腺腺泡抗体(antibodies against exocrine pancreas, PAB)、抗杯状细胞抗体(antibodies to goblet cells, GAB)阳性, 因此自身免疫相关抗体的产生与其发病及诊断密切相关^[15-17]。本文就目前已知的IBD患者血清学标志物进行简要综述。

1 血清学标志物

一般而言, 与IBD有关的血清学抗体包括两类: 抗细菌抗原抗体和自身抗体。抗细菌抗原抗体包括: 抗多糖抗体[如抗酿酒酵母抗体(ASCA)、抗乙糖苷壳糖抗体(anti-chitobioside, ACCA)、抗乙糖苷昆布糖抗体(anti-laminaribioside, ALCA)、抗海带多糖抗体(anti-laminarin, anti-L)、抗壳质多糖抗体(anti-chitin, anti-C)等]、抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(anti-Omp C)、I2抗体(anti-I2)、抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体(anti-CBir1 flagellin); 自身抗体包括: ANCA、PAB和GAB^[18]。

1.1 抗多糖抗体 抗多糖抗体的抗原大多为细菌、酵母菌等微生物细胞壁中的多糖成分^[19,20]。此类抗体中, 最为人所知的是ASCA。ASCA的抗原主要是分子量约200 kDa的磷酸肽类甘露聚糖, 如常见的啤酒酵母细胞壁成分。通过对酿酒酵母的研究, 发现UC、CD以及正常对照者三者最大的差异在于磷酸肽类甘露聚糖, 其中甘露四糖的不同最为重要^[16,21]。目前关于甘露聚糖诱导免疫反应的理论有三种。第一种理论认为, ASCA的产生是因为食用酵母或移位至肠道的酵母增加了其抗原活性, 改变了肠道黏膜屏障的渗透性, 最终引起免疫反应^[21-23]; 第二种理论认为, 免疫反应的发生与酿酒酵母和分子杆菌属享有共同表位抗原有关; 第三种理论认为, 酿酒酵母中的低聚甘露糖成分与人体中低聚甘露糖结构的同源性, 导致了免疫反应的发生。

许多研究报道指出, ASCA是大多数CD患者的血清学标志物^[24], 是一种对CD具有高度特异性的抗体, 存在IgG和IgA两个亚型。这种特异性的表达, 不仅是肠道受累时的一种简单伴随现象, 还是CD患者的一种家族性(夫妇除外)免疫应答表现。依据是^[25]: (1)在已发病或未发病家族成员中抗甘露聚糖抗体水平呈组内相关性; (2)CD患者已发病家族成员与先证者(指首先罹病的患者)的血清学反应一致; 如Sutton等^[26]报道, 血清学阳性率及ASCA抗体水平在CD先证者及已发病亲属中分别为56.3%及51.9%, 明显高于未发病亲属的9.3%及健康对照组的3.7%。然而, 有学者认为, CD的发病与酿酒酵母菌无关, 原因是酿酒酵母菌是一种普遍存在于人体中的微生物, 罕有引起明显感染, 其抗体的产生可能是对菌体本身的抗原反应所致, 也可能由目前尚未得到鉴定的交叉抗原引起^[27]。因此, ASCA是否为CD的特异性标志物尚存争议, 有待进一步证实。目前, ASCA的检测方法有间接免疫荧光法(IIF法)和酶联免疫吸附法(ELISA法)^[28-30], 两种方法的敏感性均较低。

Dotan应用聚糖阵列技术和ELISA法研究IBD患者血清中的多糖抗体, 发现了ALCA和ACCA。乙糖苷昆布糖是一种由海带多糖构成的多糖, 而乙糖苷壳糖则由N-乙酰氨基葡萄糖构成。乙糖苷昆布糖和乙糖苷壳糖是细菌等微生物的细胞壁成分, 可刺激机体产生免疫反应。现认为, ALCA和ACCA对UC、CD有重要的诊断和鉴别价值。相关报道指出, 44%ASCA阴性的CD患者ALCA和ACCA阳性, 在抗甘露聚糖、

■研发前沿

至今, IBD的特异性血清学标志物尚未被完全认识, 有待进一步探讨。而已发现的标志物虽对IBD的诊断具有重要的指导价值, 但较低的检测率限制了其在临床上的应用, 所以应探寻新的检测方法提高检测率或寻找新的特异性血清学标志物。

■相关报道

抗中性粒细胞胞浆抗体是一种自身抗体, 分为胞质型和核周型。核周型在溃疡性结肠炎患者中的阳性率和特异性高; 抗酿酒酵母抗体属于抗细菌抗原抗体, 对克罗恩病的诊断具有较高的特异性。

■创新盘点

目前,关于IBD血清学标志物的报道较少,且更多是关于抗中性粒细胞胞浆抗体和抗酿酒酵母抗体的报道。本文较全面的综述了与IBD有关的特异性血清学标志物,对临床诊治具有重要的指导价值。

ALCA、ACCA阳性的患者中,CD的敏感性是77.4%,特异性是90.6%^[31];另外,小肠发病部位与高滴度的ALCA和ACCA显著相关。

最近,发现了与IBD相关的抗海带多糖(anti-L)IgA抗体、抗壳质多糖(anti-C)IgA抗体^[32]。与ASCA相似,这些抗体对CD患者有特异性,但敏感性较低。

1.2 抗细胞外膜孔道蛋白C抗体 OmpC最初被认为可与ANCA发生交叉免疫反应^[33],后国外学者通过遗传学、生物化学和抗原抗体反应证实了其来源于大肠杆菌的外膜孔道蛋白C。研究发现,OmpC抗体存在IgG和IgA两个亚型,UC患者尤其是ANCA阳性者血清中可检测到抗OmpC IgG抗体,而抗OmpC IgA抗体则在CD患者血清中分泌过多^[34,35],但较低的检测率限制了其在临床诊断中的应用。另外,OmpC抗体能发现一部分其他血清学指标无法诊断的IBD患者。

1.3 I2抗体 2000年,研究者在CD患者结肠黏膜中发现了与ptxR和tetR细菌转录因子具有同源性的DNA序列(I2基因序列),提示微生物I2基因产物可能与CD的病理生理有关^[36]。I2基因序列最初发现于假单胞杆菌^[37]。现已证实,重组体I2蛋白的IgA血清学反应对CD具有特异性。ELISA结果显示,与UC或其他免疫性疾病不同,CD患者血清中的免疫球蛋白A反应异常,可代表疾病的严重程度,而OmpC IgA抗体和I2抗体的同时存在则增加了IBD的持续时间。

1.4 抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体 细菌鞭毛蛋白是一种常见的细菌抗原,抗原性高,存在于大多数肠道细菌中,因此,鞭毛蛋白在肠道黏膜反应中起着重要的作用。在结肠炎鼠模型中,血清抗鞭毛蛋白抗体IgG2升高,而鞭毛蛋白CBir1为免疫反应抗原,可引起强烈的B细胞和T细胞反应。ELISA法分析CD患者血清学标志物,结果显示,CD患者血清中抗鞭毛蛋白CBir1 IgG反应升高,而在UC或其他IBD中,反应很低。另外,抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体与成人CD回肠受累相关,并与狭窄和穿透性病变相关^[38]。因此,认为抗细菌鞭毛蛋白CBir1抗体对CD具有一定的特异性,但敏感性较差。

1.5 ANCA ANCA是一组自身抗体,以中性粒细胞和单核细胞胞浆成分为抗原,可通过毛细血管中的中性粒细胞、单核细胞或肠上皮细胞释放溶菌酶,损伤大面积血管和肠组织,另可通过T细胞介导的细胞免疫协同作用造成组织损伤^[39]。现已知,ANCA与小血管系统性血管炎如韦格纳

肉芽肿病,变应性肉芽肿等疾病相关。临床上,ANCA常用于疾病的诊断、预后的评估和判断炎症的反应程度。根据国际共识声明^[40],应用间接免疫荧光法(IIF法)可在正常外周血中检测到ANCA的存在,分为胞质型(cANCA)和核周型(pANCA),而核周型与IBD的发生相关,且在UC患者中的阳性率、特异性最高,但与疾病的活动度、病变程度、治疗及缓解情况不相关。

目前,多数学者认为,ANCA可能是免疫调节紊乱的标志,可能为IBD的遗传易感性的标志。依据是流行病学提示,不同人群及人种间,ANCA阳性率差异较大,尤其是IBD患者亲属的ANCA阳性率高于普通人群^[41,42]。

国外报道,pANCA产生于肠黏膜固有层和肠系膜淋巴结中的淋巴细胞,针对细胞核周围的靶抗原,在UC患者中的阳性率为40%-80%,CD为15%-25%,现被认为是UC相关的血清学标志物^[43,44]。研究发现,pANCA的高表达患者通常累及左半结肠,且于狭窄和/或穿孔相关^[45]。因此,pANCA可作为一个评价UC患者手术风险和预后的指标。

1.6 PAB 1987年,Stöcker等^[46]在IBD患者的血清中发现了PAB。他们指出,在CD患者血清中,基本都可检测到PAB(尽管敏感性较差),提示PAB以胰蛋白酶敏感的大分子蛋白质为抗原。人类或灵长类胰腺组织中,用间接免疫荧光法(IIF法)测定PAB有两种染色类型:第一种类型以在胰腺腺泡内出现水滴状荧光染色(IgG1和IgG2)为特点,第二种类型的特点是在胰腺腺泡细胞内出现均匀的斑点样荧光(IgG1)。最近,胰腺腺泡细胞的酶原颗粒膜糖蛋白(glycoprotein 2 zymogen granule membrane, GP2),一种糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白,被认为是一种PAB相关自身抗原^[47]。胰腺在激素或神经元的刺激下,GP2被转运至腺泡细胞的顶点,并在此释放至胰腺导管。除了胰腺腺泡细胞,人类M细胞特异性表达GP2,鼠肠上皮细胞亦表达GP2^[48,49]。Roggenbuck^[47]发现,与UC患者结肠活检组织相比,CD患者GP2在mRNA和蛋白质水平明显升高,支持抗GP2抗体直接参与CD病理生理的假设,而不是作为伴随现象存在。同样,国内研究发现,CD患者PAB阳性率为30%-40%,而UC和正常人仅为0.5%-6.4%。PAB阳性在增加IBD持续时间的同时并不影响其活动度,且与比PAB阴性者相比,胰腺外分泌功能更易受损。虽然PAB对CD的特异性较高,但因敏感性太低而降低了其在临床

表 1 炎症性肠病与相关的血清学标志物

炎症性肠病	抗细菌抗原抗体	自身抗体
溃疡性结肠炎	—	抗中性粒细胞胞浆抗体
克罗恩病	抗多糖抗体(抗酿酒酵母抗体、 抗乙糖苷昆布糖抗体等)、I2抗 体、抗细胞外膜孔道蛋白C抗 体(IgA)、抗细菌鞭毛蛋白CBir1 抗体	抗胰腺腺泡抗体

■应用要点

实验室检查是IBD重要的诊断手段,全面了解与IBD有关的血清学标志物,可降低漏诊率和误诊率,使更多患者得到正确、合理、及时的治疗。

应用中的价值。

1.7 ANCA 肠上皮细胞作为物理屏障,可防止细菌或其他抗原从肠腔进入血液循环。杯状细胞,作为肠上皮的特殊细胞,调节肠黏液和因子的产生,而这些有助于肠上皮细胞的修复和炎症调节^[4]。在成人UC患者中,GAB的检测率为15.0%-46.6%,而CD患者为1.4.0%-33%^[15,46,50,51]。GAB检测率的不同与检测方法不同有关,包括检测部位及检测数量。

总之,血清学标志物对IBD的诊断具有重要的指导作用,但不同的血清学标志物对UC或CD的特异性不同(表1)。

2 应用现状

UC和CD是IBD的两个主要亚型,临床表现相似,但治疗方案不同。因此,UC和CD的鉴别诊断尤为重要。目前,IBD血清学标志物的检测方法主要是间接免疫荧光法(IIF法)和酶联免疫吸附法(ELISA法)。在IBD的血清学标志物中,ANCA和ASCA是IBD临床检查中常见且重要的标志物,对UC和CD的鉴别诊断有重要作用,但敏感性较低,因此有待新检测方法的探寻。另外,ALCA、ACCA和OmpC抗体等相关抗体较低的检测率限制了其在临床上的应用,如果提高他们的检测率及敏感性并运用至临床,将会大大提高IBD亚型的诊断,会使更多的IBD患者得到正确、及时、合理的治疗。目前,联合检测两种或以上抗体对IBD诊断价值的报道不一,尚有争议。如高翔等^[52]运用间接免疫荧光生物薄片法检测29例UC、34例CD及25例正常对照者血清中ASCA和pANCA的表达,结果发现ASCA和pANCA阳性有利于IBD的诊断却不能敏感地筛选患者,且ASCA和pANCA联合检测不能作为汉族UC和CD鉴别诊断的指标。总之,为提高IBD的诊断率,应提高已发现血清学标志物的检测率,同时进一步探寻新的、敏感性高、特异性高的标志物。

3 结论

目前,IBD的病因及发病机制尚不十分清楚,有关IBD的诊断及鉴别诊断的研究是临床研究的热点之一。现越来越多的资料显示,血清学标志物的检测有助于IBD的诊断及鉴别诊断,且方便快捷,但较低检测率限制了其在临床诊断中的应用。因此,为使更多的患者得到正确、及时、合理的治疗,改善已发现的血清学标志物的检测方法,从而提高IBD及其亚型的诊断是目前的首要工作。

4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
- 2 Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-429 [PMID: 12167685 DOI: 10.1056/NEJMra020831]
- 3 Wilkins T, Jarvis K, Patel J. Diagnosis and management of Crohn's disease. *Am Fam Physician* 2011; 84: 1365-1375 [PMID: 22230271]
- 4 Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078 [PMID: 19923578 DOI: 10.1056/NEJMra0804647]
- 5 Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12 Suppl 1: S3-S9 [PMID: 16378007 DOI: 10.1097/01.MIB.0000195385.19268.68]
- 6 Travis SP, Stange EF, Lémann M, Oresland T, Chowers Y, Forbes A, D'Haens G, Kitis G, Cortot A, Prantera C, Marteau P, Colombel JF, Gionchetti P, Bouhnik Y, Turet E, Kroesen J, Starlinger M, Mortensen NJ. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. *Gut* 2006; 55 Suppl 1: i16-i35 [PMID: 16481629 DOI: 10.1136/gut.2005.081950b]
- 7 Stange EF, Travis SP, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, Barakauskiene A, Villanacci V, Von Herbay A, Warren BF, Gasche C, Tilg H, Schreiber SW, Schölmerich J, Reinisch W. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut* 2006; 55 Suppl 1: i1-15 [PMID: 16481628 DOI: 10.1136/gut.2005.081950a]
- 8 Carter MJ, Lobo AJ, Travis SP. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in

■名词解释

自身抗体: 自身抗体是指针对自身组织、器官、细胞及细胞成分的抗体。正常的免疫反应有保护性防御作用, 即对自身组织、成分不发生反应。一旦自身耐受的完整性遭到破坏, 则机体视自身组织、成分为“异物”, 而发生自身免疫反应, 产生自身抗体。

- adults. *Gut* 2004; 53 Suppl 5: V1-16 [PMID: 15306569 DOI: 10.1136/gut.2004.043372]
- 9 Mokrowiecka A, Kumor A, Jakubczyk E, Pietruczuk M, Malecka-Panas E. The application of Montreal classification in different clinical and serological IBD subtypes. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 787-793 [PMID: 21033230]
- 10 Arai R. Serologic markers: impact on early diagnosis and disease stratification in inflammatory bowel disease. *Postgrad Med* 2010; 122: 177-185 [PMID: 20675980 DOI: 10.3810/pgm.2010.07.2184]
- 11 Tsianos EV, Katsanos K. Do we really understand what the immunological disturbances in inflammatory bowel disease mean? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 521-525 [PMID: 19195052 DOI: 10.3748/wjg.15.521]
- 12 Hart AL, Ng SC, Mann E, Al-Hassi HO, Bernardo D, Knight SC. Homing of immune cells: role in homeostasis and intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1969-1977 [PMID: 20848507 DOI: 10.1002/ibd.21304]
- 13 Siegmund B, Zeitz M. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3178-3183 [PMID: 21912465 DOI: 10.3748/wjg.v17.i27.3178]
- 14 Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4807-4812 [PMID: 16937461]
- 15 Homsak E, Micetić-Turk D, Bozic B. Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122 Suppl 2: 19-25 [PMID: 20517666 DOI: 10.1007/s00508-010-1344-y]
- 16 Mendoza JL, Abreu MT. Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33 Suppl 3: S158-S173 [PMID: 20117339 DOI: 10.1016/S0399-8320(09)73151-3]
- 17 Reumaux D, Sendid B, Poulain D, Duthilleul P, Dewit O, Colombel JF. Serological markers in inflammatory bowel diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 19-35 [PMID: 12617880 DOI: 10.1053/bega.2002.0347]
- 18 Kuna AT. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochem Med (Zagreb)* 2013; 23: 28-42 [PMID: 23457764 DOI: 10.11613/BM.2013.006]
- 19 Dotan N, Altstock RT, Schwarz M, Dukler A. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis. *Lupus* 2006; 15: 442-450 [PMID: 16898180 DOI: 10.1191/0961203306lu2331oa]
- 20 Rieder F, Schleider S, Wolf A, Dirmeier A, Strauch U, Obermeier F, Lopez R, Spector L, Fire E, Yarden J, Rogler G, Dotan N, Klebl F. Serum anti-glycan antibodies predict complicated Crohn's disease behavior: a cohort study. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1367-1375 [PMID: 20024902 DOI: 10.1002/ibd.21179]
- 21 Sendid B, Colombel JF, Jacquinet PM, Faille C, Fruit J, Cortot A, Lucidarme D, Camus D, Poulain D. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 219-226 [PMID: 8991640]
- 22 Ukabam SO, Clamp JR, Cooper BT. Abnormal small intestinal permeability to sugars in patients with Crohn's disease of the terminal ileum and colon. *Digestion* 1983; 27: 70-74 [PMID: 6414866 DOI: 10.1159/000198932]
- 23 Standaert-Vitse A, Jouault T, Vandewalle P, Mille C, Seddik M, Sendid B, Mallet JM, Colombel JF, Poulain D. Candida albicans is an immunogen for anti-Saccharomyces cerevisiae antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 1764-1775 [PMID: 16697740 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.02.009]
- 24 Vind I, Riis L, Jespersgaard C, Jess T, Knudsen E, Pedersen N, Elkjaere M, Hansen TS, Andersen IB, Paerregaard A, Bondesen S, Loch H, Larsen SO, Moesgaard F, Bendtsen F, Andersen PS, Munkholm P. Genetic and environmental factors as predictors of disease severity and extent at time of diagnosis in an inception cohort of inflammatory bowel disease, Copenhagen County and City 2003-2005. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 162-169 [PMID: 21172207 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.01.004]
- 25 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576 DOI: 10.1038/35079107]
- 26 Sutton CL, Yang H, Li Z, Rotter JL, Targan SR, Braun J. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. *Gut* 2000; 46: 58-63 [PMID: 10601056 DOI: 10.1136/gut.46.1.58]
- 27 Annese V, Andreoli A, Andriulli A, Dinca R, Gionchetti P, Latiano A, Lombardi G, Piepoli A, Poulain D, Sendid B, Colombel JF. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae Mannan antibodies in Crohn's disease and ulcerative colitis: a GISC study. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2407-2412 [PMID: 11513182 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.04043.x]
- 28 Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1340-1355 [PMID: 22069240 DOI: 10.1002/ibd.21903]
- 29 Desplat-Jégo S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson M, Ballot E, Sarles J, Baudon JJ, Grimaud JC, Veyrac M, Chamouard P, Humbel RL. Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2312-2318 [PMID: 17511029]
- 30 Mokrowiecka A, Daniel P, Slomka M, Majak P, Malecka-Panas E. Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 162-166 [PMID: 19453050]
- 31 Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A, Weishauss O, Spector L, Shtevi A, Altstock RT, Dotan N, Halpern Z. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 366-378 [PMID: 16890590 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.030]
- 32 Seow CH, Stempak JM, Xu W, Lan H, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Dotan N, Silverberg MS. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1426-1434 [PMID: 19491856]

- DOI: 10.1038/ajg.2009.79]
- 33 Cohavy O, Bruckner D, Gordon LK, Misra R, Wei B, Eggena ME, Targan SR, Braun J. Colonic bacteria express an ulcerative colitis pANCA-related protein epitope. *Infect Immun* 2000; 68: 1542-1548 [PMID: 10678972 DOI: 10.1128/IAI.68.3.1542-1548.2000]
 - 34 Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, Targan SR. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002; 123: 689-699 [PMID: 12198693 DOI: 10.1053/gast.2002.35379]
 - 35 Joossens S, Colombel JF, Landers C, Poulain D, Geboes K, Bossuyt X, Targan S, Rutgeerts P, Reinisch W. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut* 2006; 55: 1667-1669 [PMID: 16687433 DOI: 10.1136/gut.2005.089623]
 - 36 Sutton CL, Kim J, Yamane A, Dalwadi H, Wei B, Landers C, Targan SR, Braun J. Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 23-31 [PMID: 10889151 DOI: 10.1053/gast.2000.8519]
 - 37 Wei B, Huang T, Dalwadi H, Sutton CL, Bruckner D, Braun J. *Pseudomonas fluorescens* encodes the Crohn's disease-associated I2 sequence and T-cell superantigen. *Infect Immun* 2002; 70: 6567-6575 [PMID: 12438326 DOI: 10.1128/IAI.70.12.6567-6575.2002]
 - 38 孙瑾, 于成功. 炎症性肠病临床表型与免疫标记物的相关性. *胃肠病学* 2013; 18: 371-373
 - 39 Vergara T, Cofré P, Cifuentes S, Pulgar U, Puebla C, Velasco S. [Presence of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and anti *Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) among patients with ulcerative colitis]. *Rev Med Chil* 2006; 134: 960-964 [PMID: 17130982 DOI: 10.4067/S0034-98872006000800003]
 - 40 Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, McEvoy R, Pusey C, Pollock W, Trevisin M, Wiik A, Wong R. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 312-318 [PMID: 14502794 DOI: 10.1309/WAEPADW0K4LPUHFN]
 - 41 Basu D, Lopez I, Kulkarni A, Sellin JH. Impact of race and ethnicity on inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2254-2261 [PMID: 16181378 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00233.x]
 - 42 Lawrance IC, Murray K, Hall A, Sung JJ, Leong R. A prospective comparative study of ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian IBD patients. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2186-2194 [PMID: 15555001 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40486.x]
 - 43 Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, Tekkis PP. Diagnostic precision of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2410-2422 [PMID: 16952282 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00840.x]
 - 44 Spivak J, Landers CJ, Vasiliasauskas EA, Abreu MT, Dubinsky MC, Papadakis KA, Ippoliti A, Targan SR, Fleshner PR. Antibodies to I2 predict clinical response to fecal diversion in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1122-1130 [PMID: 17119386 DOI: 10.1097/01.mib.0000235833.47423.d7]
 - 45 Klebl FH, Bataille F, Berteau CR, Herfarth H, Hofstädter F, Schölmerich J, Rogler G. Association of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies with Vienna classification subtypes of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9: 302-307 [PMID: 14555913 DOI: 10.1097/00054725-200309000-00003]
 - 46 Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, Jantschek G, Scriba PC. Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1987; 139: 41-52 [PMID: 3324299 DOI: 10.3109/00365528709089774]
 - 47 Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Reinhold D, Büttner T, Jungblut PR, Porstmann T, Laass MW, Henker J, Büning C, Feist E, Conrad K. Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1620-1628 [PMID: 19549613 DOI: 10.1136/gut.2008.162495]
 - 48 Terahara K, Yoshida M, Igarashi O, Nochi T, Pontes GS, Hase K, Ohno H, Kurokawa S, Mejima M, Takayama N, Yuki Y, Lowe AW, Kiyono H. Comprehensive gene expression profiling of Peyer's patch M cells, villous M-like cells, and intestinal epithelial cells. *J Immunol* 2008; 180: 7840-7846 [PMID: 18523247]
 - 49 Ohno H, Hase K. Glycoprotein 2 (GP2): grabbing the FimH bacteria into M cells for mucosal immunity. *Gut Microbes* 2010; 1: 407-410 [PMID: 21468225 DOI: 10.4161/gmic.1.6.14078]
 - 50 Hibi T, Ohara M, Kobayashi K, Brown WR, Toda K, Takaishi H, Hosoda Y, Hayashi A, Iwao Y, Watanabe M. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation studies on anti-goblet cell antibody using a mucin producing cell line in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1994; 35: 224-230 [PMID: 8307474 DOI: 10.1136/gut.35.2.224]
 - 51 Lakatos PL, Altörjay I, Szamosi T, Palatka K, Vitalis Z, Tumpek J, Sipka S, Udvardy M, Dinya T, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Tulassay Z, Miheller P, Barta Z, Stocker W, Papp J, Veres G, Papp M. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 365-374 [PMID: 18972554 DOI: 10.1002/ibd.20778]
 - 52 高翔, 胡品津, 何瑶, 廖山婴, 彭穗, 陈昊湖. 炎症性肠病患者血清中自身抗体检测的临床意义. *中华内科杂志* 2005; 44: 428-430

同行评价

IBD的病因及发病机制尚不十分清楚, 有关IBD的诊断及鉴别诊断的研究是临床研究的热点之一。作者对IBD血清学标志物研究进展进行了综述, 具有一定的临床参考价值。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达

雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东

■背景资料

胃癌的发病率和死亡率居我国恶性肿瘤之首。目前研究发现, 肿瘤血管的新生在胃癌的发生和发展中可能有重要的地位, 但尚未找到有效靶点。

雷宇鹏, 周晓东, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

陈红霞, 南昌大学第一附属医院妇产科 江西省南昌市 330006

雷宇鹏, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160307

作者贡献分布: 雷宇鹏与陈红霞对本文所作贡献均等; 此课题由周晓东设计; 研究过程由雷宇鹏与陈红霞操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周晓东提供; 数据分析由雷宇鹏完成; 本论文写作由周晓东与雷宇鹏完成; 课题指导工作由周晓东完成。

通讯作者: 周晓东, 副教授, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。

yfyzd@163.com

电话: 0791-8692505

收稿日期: 2013-09-15 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-11-25 在线出版日期: 2013-12-28

MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells

Yu-Peng Lei, Hong-Xia Chen, Xiao-Dong Zhou

Yu-Peng Lei, Xiao-Dong Zhou, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Hong-Xia Chen, Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160307

Correspondence to: Xiao-Dong Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yong-waizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzd@163.com

Received: 2013-09-15 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-11-25 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To determine the regulatory effect of miR-126 on expression of vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and its downstream proteins including protein kinase B (Akt), mammalian target of rapamycin protein (mTOR) and extracellular regulated protein kinases (Erk1/2) in gastric cancer cells.

METHODS: Recombinant lentivirus LV-miR-126 and miRCURY LNA™ miR-126 inhibitor were used to up-regulate or down-regulate the miR-126 expression in SGC-7901 cells. The cells were divided into a mock group, a lenti-miR-126 group, a lenti-control group, a locked nucleic acid (LNA)-antimiR-126 oligonucleotides group and a LNA-control group. Real-time PCR was used to confirm the relative expression of miR-126, and Western blot was used to detect the expression levels of Akt, mTOR, Erk and VEGFA proteins in different groups.

RESULTS: Western blot analysis demonstrated that the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, mTOR and Erk1/2 was significantly decreased in the lenti-miR-126 group than in the mock group (1.00 ± 0.00 vs 1.60 ± 0.19 , 1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23 , 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38 , 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36 , all $P < 0.01$). In contrast, the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, Erk1/2 and mTOR was significantly increased in the LNA-miR-126 group than in the mock group (2.46 ± 0.31 vs 1.60 ± 0.19 , 3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23 , 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38 , 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36 , all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Our results indicate that miR-126 could regulate the expression of VEGFA and its downstream proteins Akt, Erk1/2 and mTOR. These findings suggest that there may be a miR-126/VEGFA signaling pathway regulating angiogenesis in gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MiR-126; Vascular endothelial growth factor-A; Gastric cancer; Angiogenesis

Lei YP, Chen HX, Zhou XD. MiR-126 regulates the expression of vascular endothelial growth factor A and its downstream target proteins Akt, mTOR and Erk1/2 in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4116-4120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4116>

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

摘要

目的: 本研究拟明确miR-126对胃癌细胞血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)及其下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)和丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases/extracellular regulated protein kinases, MAPK/Erk)两条信号通路上核心蛋白Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin protein, mTOR)和细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, Erk1/2)表达的调控作用, 从而来初步探讨miR-126影响胃癌细胞恶性表型的可能机制。

方法: 选取人胃腺癌细胞SGC-7901作为实验细胞, 分空白组(mock)、miR-126慢病毒实验组(Lenti-miR-126)、慢病毒对照组(Lenti-control)、miR-126寡核苷酸抑制组(locked nucleic acid anti miR-126 oligonucleotides group, LNA-miR-126)与寡核苷酸对照组(LNA-control)共5组。利用miR-126慢病毒和miR-126 LNA power inhibitor探针转染SGC-7901细胞系, 转染后72 h观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达情况, 感染效率>70%, 提取细胞总小RNA和总蛋白, 利用实时定量PCR检测miR-126的表达情况, 同时通过Western blot检测VEGFA及下游信号通路上核心蛋白Erk、Akt、mTOR的表达。

结果: Western blot显示miR-126慢病毒实验组的VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2表达较空白组明显降低(1.00 ± 0.00 vs 1.60 ± 0.19 , 1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23 , 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38 , 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36 , 均 $P < 0.01$), miR-126寡核苷酸抑制组的VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2表达较空白组明显升高(2.46 ± 0.31 vs 1.60 ± 0.19 , 3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23 , 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38 , 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36 , 均 $P < 0.01$)。

结论: miR-126可调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白的表达, 胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: miR-126; 血管内皮生长因子A; 胃癌血管新生

核心提示: 本文探讨了miR-126对胃癌细胞血

管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)及其下游靶蛋白的调控作用, 同时结合大量的前人研究及本课题组前期的研究, 初步推测胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生。

雷宇鹏, 陈红霞, 周晓东. miR-126调控胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白Akt、mTOR、Erk1/2的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4116-4120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4116>

0 引言

胃癌的发病率和死亡率居我国恶性肿瘤之首, 占胃恶性肿瘤的95%。目前研究发现, 肿瘤血管的新生在胃癌的发生和发展中可能有重要的地位, 但尚未找到有效靶点。大量的研究包括我们前期的研究发现, 胃癌(gastric cancer, GC)过高表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR), 其过表达与胃癌的血管新生及恶性表型密切相关^[1-5]。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)是VEGF/VEGFR信号通路重要的下游靶蛋白, 经VEGF介导的MAPK/ERK和PI3K/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)两条信号通路在调节肿瘤细胞和内皮细胞的存活、稳定、增殖、迁移乃至血管新生中发挥着重要作用^[6,7]。Feng等^[8]研究发现, 与正常组织相比较, miR-126在胃癌组织中有着明显的低表达。在SGC-7901胃癌细胞中miR-126的异位表达能够通过诱导细胞进入G₀/G₁期来抑制细胞的生长, 说明了在胃癌中miR-126扮演着抑制肿瘤的角色。miR-126在生理性血管生长中具有强大的调控功能, 他能否抑制肿瘤的血管新生仍不清楚。故此, 我们提出: GC细胞下调表达miR-126与高表达VEGF/VEGFR可能存在某种负调控关联? 刘博等^[9]通过生物信息学研究发现, miR-126和VEGF的3'端非编码区域(untranslated region, 3'UTR)存在互补序列, 并通过报告基因方法初步证明了miR-126可通过与VEGFA 3'UTR的互补而抑制VEGFA的翻译, 因此VEGFA可能是miR-126负调控的靶基因。因此, 本课题将通过体外实验来诱导胃癌细胞miR-126过表达和miR-126低表达来观察VEGFA的变化及下游PI3K/Akt和MAPK/Erk两条信号通路上核心蛋

■ 研发前沿

目前已有大量的研究证实血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在胃癌的发生和发展中的重要作用, 但是其具体的作用机制及潜在靶点尚不明确, 尚需进一步研究。

■ 相关报道

目前已有许多研究显示VEGF主要通过介导MAPK/Erk和/或PI3K/Akt两条信号通路调控肿瘤血管生长, 同时也有研究报道miR-126参与血管新生, 具体机制仍不清楚。

■创新盘点

本文第一次证实了胃癌细胞中miR-126对VEGFA的调控作用,其作用机制有待进一步研究。

白的表达变化,以明确miR-126对GC细胞VEGFA的靶向调控作用及其对VEGFA下游关键信号通路的影响,从而初步探讨胃癌细胞中miR-126的表达与胃癌血管新生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 中分化的人胃腺癌细胞系SGC-7901为南昌大学第一附属医院消化研究所保存;鼠抗人Akt、兔抗人mTOR和鼠抗人Erk1/2多克隆抗体购自Cell Signaling公司;鼠抗人VEGFA多克隆抗体购自Abcam公司;has-miR-126慢病毒产品购自上海吉凯基因化学技术有限公司;miR-CURY LNA Power inhibitor探针购自EXIQON公司;Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司;Small RNA提取试剂盒、cDNA逆转录试剂盒及Real-time PCR反应试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 miR-126慢病毒转染SGC-7901细胞(miR-126慢病毒组): 细胞40%融合时,将miR-126慢病毒感染SGC-7901细胞,同时取空病毒载体实验作为阴性对照,非感染细胞为空白对照。感染12 h后观察细胞状态,待48 h更换为正常培养基,感染72 h观察绿色荧光蛋白GFP的表达情况,一般感染效率>70%即可进入后续实验。

1.2.2 miR-CURY LNA Power inhibitor探针转染SGC-7901细胞(miR-126探针组): 细胞40%融合时,将miR-126 LNA Power inhibitor探针转染SGC-7901细胞,按Exiqon miR-CURY™ LNA Power inhibitor转染试剂盒操作说明, Lipofectamine 2000作为转染媒介,取无关ir-antagomir转染作为对照,非转染细胞为空白对照,感染12 h后更换新鲜培养基,感染72 h观察绿色荧光蛋白GFP的表达情况,一般感染效率>70%即可进入后续实验。

1.2.3 实时定量PCR检测miR-126表达: 采用实时定量PCR对5组细胞的miR-126进行检测,操作按Small RNA提取试剂盒、cDNA逆转录试剂盒及Real-time PCR反应试剂盒说明书进行。

1.2.4 Western blot蛋白印迹检测VEGFA及下游信号通路核心蛋白Akt、mTOR、Erk的表达: 用冰PBS清洗细胞2次,以去除死细胞和培养基,用滤纸尽量吸干残余的PBS。加入含蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂的蛋白提取液400 μ L,反复在冰上摇匀,使提取液与细胞充分接触30 min。离心12000 r/min, 30 min,回收并分装上清液,分别提

表1 GC-7901各组细胞miR-126的表达情况目的/内参比($n=3$, mean \pm SD)

分组	SGC-7901
Lenti-miR-126	9.57 \pm 1.24 ^b
Lenti-control	1.63 \pm 0.46
LNA-miR-126	0.04 \pm 0.012 ^b
LNA-control	1.17 \pm 0.25
mock	1.00 \pm 0.00

^b $P<0.01$ vs mock.

取5组细胞总蛋白。以 β -actin的水平作为等量蛋白质上样对照,每个样本至少重复3遍,取50 μ g蛋白质样品进行SDS-PAGE电泳,并转至硝酸纤维素膜上,室温封闭2 h后,用TBST缓冲液漂洗3次,分别加入相应的一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST漂洗3次后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔或羊抗鼠二抗(1:2000),室温摇床孵育2 h,增强化学发光显色系统显色,使用分子成像仪成像,条带灰度值分析(图1)。

1.2.5 图像分析: 采用美国Image Lab图像分析系统对Western blot印迹结果进行图像分析,以miR-126慢病毒实验组设为参考条带,计算各条带的相对灰度值。

统计学处理 实验数据由SPSS17.0统计软件处理,计量资料用mean \pm SD表示。应用Student's *t*检验、方差分析(ANOVA)对实验结果进行统计分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-126慢病毒和miR-126 LNA power inhibitor 探针转染胃癌细胞SGC-7901后miR-126的表达 实时定量PCR检测5组细胞miR-126的表达水平显示,miR-126慢病毒实验组的miR-126的表达是空白组的9.57倍(9.567 \pm 1.243 vs 1.000 \pm 0.000, $P<0.01$),慢病毒对照组miR-126的表达与空白组无明显差异($P>0.05$);miR-126探针组miR-126的表达明显低于空白组(0.037 \pm 0.012 vs 1.000 \pm 0.000, $P<0.01$),寡核苷酸对照组miR-126的表达与空白组无明显差异($P>0.05$)(表1)。

2.2 miR-126的表达与VEGFA的关系 SGC-7901细胞中,miR-126慢病毒实验组的VEGFA表达明显低于空白组(1.00 \pm 0.00 vs 1.60 \pm 0.19, $P<0.01$),miR-126探针组的VEGFA表达明显高于空白组(2.46 \pm 0.31 vs 1.60 \pm 0.19, $P<0.01$)(表2)。

2.3 miR-126的表达与Akt、mTOR、Erk1/2的关

■应用要点

VEGF在胃癌血管新生发挥至关重要的作用,肿瘤的血管新生在肿瘤的发生发展中扮演着重要角色,本文阐述了miR-126与VEGFA的关系,为如何调控胃癌恶性表型提供了新的研究方向。

表 2 SGC-7901各组细胞蛋白的表达情况目的/内参灰度比($n = 3$, mean \pm SD)

分组	Akt	Erk1/2	VEGFA	mTOR
Lenti-miR-126	1.00 \pm 0.00 ^b	1.00 \pm 0.00 ^b	1.00 \pm 0.00 ^b	1.00 \pm 0.00 ^b
Lenti-control	1.59 \pm 0.20	1.50 \pm 0.32	1.52 \pm 0.28	2.08 \pm 0.16
LNA-miR-126	3.09 \pm 0.44 ^b	2.26 \pm 0.30 ^b	2.46 \pm 0.31 ^b	3.83 \pm 0.64 ^b
LNA-control	2.03 \pm 0.23	1.57 \pm 0.30	1.64 \pm 0.20	2.16 \pm 0.55
Mock	1.89 \pm 0.23	1.52 \pm 0.36	1.60 \pm 0.19	2.11 \pm 0.38

^b $P < 0.01$ vs mock. VEGFA: 血管内皮生长因子A; Akt: 蛋白激酶B; Erk1/2: 细胞外调节蛋白激酶; mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。

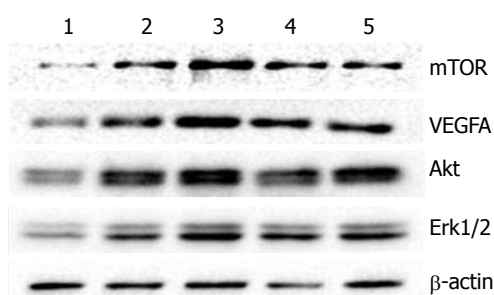


图 1 Western blot检测SGC-7901细胞蛋白的表达。1: Lenti-miR-126; 2: Lenti-control; 3: LNA-miR-126; 4: LNA-control; 5: mock. mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; VEGFA: 血管内皮生长因子A; Akt: 蛋白激酶B; Erk1/2: 细胞外调节蛋白激酶。

系 SGC-7901细胞中, miR-126慢病毒实验组的Akt、mTOR、Erk1/2表达明显低于空白组(1.00 ± 0.00 vs 1.89 ± 0.23 , 1.00 ± 0.00 vs 2.11 ± 0.38 , 1.00 ± 0.00 vs 1.52 ± 0.36 , $P < 0.01$), miR-126探针组的Akt、mTOR、Erk1/2表达明显高于空白组(3.09 ± 0.44 vs 1.89 ± 0.23 , 3.83 ± 0.64 vs 2.11 ± 0.38 , 2.26 ± 0.30 vs 1.52 ± 0.36 , $P < 0.01$)(表2)。

3 讨论

miRNAs是一类长度在22 nt左右的内源性、非编码RNA基因产物, 通过与mRNA的3'端非翻译区(3'UTR)互补结合而抑制翻译, 或通过与mRNA翻译区结合而直接引起mRNA的剪切, 从而负调控靶基因^[10]。前期本课题组综合运用miRNAs靶基因预测软件TargetScan和miRanda等对miR-126进行了分析和刘博等^[9]通过生物学信息研究均发现miR-126和VEGF的3'UTR存在多个互补位点, 这预示着miR-126可通过与VEGFA 3'UTR的互补而抑制VEGFA的翻译, 因此VEGFA可能是miR-126负调控的靶基因。在本研究中, 抑制胃癌细胞miR-126的表达, VEGFA及相应的下游靶蛋白明显的升高; 相反, 诱导胃癌细胞miR-126的表达, VEGFA及其相应的下游

靶蛋白明显的降低。因此, 我们推测, 在胃癌细胞中miR-126表达下调, 对VEGFA表达的抑制作用减弱, VEGFA表达量增加, 其下游信号通路PI3K/Akt及MAPK/Erk上的核心靶蛋白表达量也随之增加; 相反, miR-126表达上调, 对VEGFA表达的抑制作用增强, VEGFA表达量减少, 其下游信号通路PI3K/Akt及MAPK/Erk上的核心靶蛋白表达量也随之减少。

既往的研究已证实VEGF是目前发现促进肿瘤血管新生作用最强大的因子, VEGFA是VEGF家族中调控血管生成最重要的一员。VEGF/VEGFR胞内信号途径主要有两条^[11]: MAPK/Erk与PI3K/Akt。Claesson-Welsh等^[12]综述了VEGFA和肿瘤血管的关系, 其发现VEGFA主要是通过MAPK/ERK、MAPK/P38、PI3K/AKT及FAK等来调控肿瘤血管新生。甚至包括我们前期对GC的研究证实, GC中存在VEGF/PI3K/Akt信号通路调控GC细胞的凋亡、增殖、化疗耐药及血管新生^[13-15]。因此, 我们推测VEGFA可能通过PI3K/Akt和/或MAPK/Erk信号通路参与胃癌血管新生的调控。

Nicoli等^[16]在对经典的斑马鱼生理性血管生长模型中的实验发现, miR-126在血管生长中扮演着“分子开关”的角色。Li等^[17]和Feng等^[8]的研究成果显示, miR-126在胃癌中呈下调表达。Chen等^[18]在1194例亚洲胃癌患者与1618例正常对照组做了一项荟萃分析, 结果发现, 与对照组相比, VEGF在患有胃癌的亚洲患者体内表达显著增高。加之我们前期研究发现, GC过高表达VEGF和VEGFR^[1-3]。结合本研究的研究结果, 我们推测胃癌中可能存在miR-126/VEGFA信号通路调控胃癌的血管新生。

4 参考文献

- 刘晋, 于皆平, 王晓玲, 周晓东, 于红刚. 环氧合酶-2和血管内皮生长因子与胃癌淋巴管转移. 中华内科杂志

■名词解释

miRCURY LNA™
miRNA: 是一种寡核苷酸RNA抑制剂, 可以抑制靶细胞相应RNA的表达。

■同行评价

本文初步探讨了 miR-126对胃癌细胞VEGFA及其下游靶蛋白的调控作用,对该领域的进一步研究提供了实验依据,有一定学术价值。

- 2004; 43: 841-844
- 2 Liu J, Yu HG, Yu JP, Wang XL, Zhou XD, Luo HS. Overexpression of cyclooxygenase-2 in gastric cancer correlates with the high abundance of vascular endothelial growth factor-C and lymphatic metastasis. *Med Oncol* 2005; 22: 389-397 [PMID: 16260857 DOI: 10.1385/MO: 22: 4: 389]
- 3 Zhou XD, Yu JP, Liu J, Luo HS, Chen HX, Yu HG. Overexpression of cellular FLICE-inhibitory protein (FLIP) in gastric adenocarcinoma. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 397-405 [PMID: 14636156 DOI: 10.1042/CS20030238]
- 4 Iordache S, Saftoiu A, Georgescu CV, Ramboiu S, Gheonea DI, Filip M, Schenker M, Ciurea T. Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density--two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; 19: 135-139 [PMID: 20593045]
- 5 Wang X, Cao W, Mo M, Wang W, Wu H, Wang J. VEGF and cortactin expression are independent predictors of tumor recurrence following curative resection of gastric cancer. *J Surg Oncol* 2010; 102: 325-330 [PMID: 20589712 DOI: 10.1002/jso.21644]
- 6 Graupera M, Guillermet-Guibert J, Foukas LC, Phng LK, Cain RJ, Salpekar A, Pearce W, Meek S, Millan J, Cutillas PR, Smith AJ, Ridley AJ, Ruhrberg C, Gerhardt H, Vanhaesebroeck B. Angiogenesis selectively requires the p110alpha isoform of PI3K to control endothelial cell migration. *Nature* 2008; 453: 662-666 [PMID: 18449193 DOI: 10.1038/nature06892]
- 7 Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2039-2049 [PMID: 18463380 DOI: 10.1056/NEJMra0706596]
- 8 Feng R, Chen X, Yu Y, Su L, Yu B, Li J, Cai Q, Yan M, Liu B, Zhu Z. miR-126 functions as a tumour suppressor in human gastric cancer. *Cancer Lett* 2010; 298: 50-63 [PMID: 20619534 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.06.004]
- 9 刘博, 秦永文, 吴弘, 马莉萍. miR-126的表达谱分析及其功能的初步研究. 上海: 第二军医大学, 2009
- 10 Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev* 2004; 18: 504-511 [PMID: 15014042 DOI: 10.1101/gad.1184404]
- 11 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279 DOI: 10.1038/nrc1840]
- 12 Claesson-Welsh L, Welsh M. VEGFA and tumour angiogenesis. *J Intern Med* 2013; 273: 114-127 [PMID: 23216836 DOI: 10.1111/joim.12019]
- 13 周晓东, 于皆平, 于红刚, 罗和生, 吕农华, 朱萱. 蛋白激酶B(PKB)在胃癌中的表达及其生物学意义. 中华消化杂志 2005; 25: 401-405
- 14 Yu HG, Ai YW, Yu LL, Zhou XD, Liu J, Li JH, Xu XM, Liu S, Chen J, Liu F, Qi YL, Deng Q, Cao J, Liu SQ, Luo HS, Yu JP. Phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway plays an important role in chemoresistance of gastric cancer cells against etoposide and doxorubicin induced cell death. *Int J Cancer* 2008; 122: 433-443 [PMID: 17935137 DOI: 10.1002/ijc.23049]
- 15 Zhou XD, Chen HX, Guan RN, Lei YP, Shu X, Zhu Y, Lv NH. Protein kinase B phosphorylation correlates with vascular endothelial growth factor A and microvessel density in gastric adenocarcinoma. *J Int Med Res* 2012; 40: 2124-2134 [PMID: 23321169]
- 16 Nicoli S, Standley C, Walker P, Hurlstone A, Fogarty KE, Lawson ND. MicroRNA-mediated integration of haemodynamics and Vegf signalling during angiogenesis. *Nature* 2010; 464: 1196-1200 [PMID: 20364122 DOI: 10.1038/nature08889]
- 17 Li X, Zhang Y, Zhang Y, Ding J, Wu K, Fan D. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut* 2010; 59: 579-585 [PMID: 19951901 DOI: 10.1136/gut.2008.175497]
- 18 Chen J, Li T, Wu Y, He L, Zhang L, Shi T, Yi Z, Liu M, Pang X. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1799-1812 [PMID: 21918901 DOI: 10.1007/s00432-011-1057-2]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系

戴文玲, 黄海峰, 陆翠华

戴文玲, 盐城市第一人民医院重症监护 江苏省盐城市 224000

黄海峰, 盐城市振阳医院检验科 江苏省盐城市 224000

陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226000

戴文玲, 主治医师, 主要从事肝纤维化的研究.

作者贡献分布: 陆翠华主要参加课题的设计, 在研究过程中给予指导; 戴文玲主要是完成实验、数据分析、论文的写作修改; 黄海峰主要参与各检测方法的指导及协助完成实验.

通讯作者: 陆翠华, 主任医师, 226001, 江苏省南通市崇川区西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科. lch670608@sina.com
电话: 0513-81161826

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2013-12-28

Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis

Wen-Ling Dai, Hai-Feng Huang, Cui-Hua Lu

Wen-Ling Dai, Department of Intensive Care Unit, the First People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224000, Jiangsu Province, China

Hai-Feng Huang, Department of Laboratory Medicine, Zhenyang Hospital of Yancheng City, Yancheng 224000, Jiangsu Province, China

Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cui-Hua Lu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. lch670608@sina.com

Received: 2013-11-06 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of osteopontin (OPN) in hepatic fibrosis and explore its correlation with the expression of alpha-smooth muscle actin (α -SMA) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) as well as the activation of hepatic stellate cells (HSCs).

METHODS: Forty healthy male SD rats were randomly divided into a normal control group and a carbon tetrachloride treatment group. The rats in the treatment group were given a subcutaneous injection of carbon tetrachloride, and

sacrificed at weeks 2, 4 and 6 after injection. The mRNA and protein expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 was assayed by reverse transcription-polymerase chain reaction, Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS: PN, α -SMA and TGF- β 1 were slightly expressed in normal liver tissues. After injection of carbon tetrachloride, the expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 began to increase at week 2 and was significantly higher at weeks 4 and 6 ($P < 0.05$), showing a gradually rising trend. The expression of OPN was positively correlated with that of α -SMA and TGF- β 1 ($r = 0.625, 0.587$, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of OPN, α -SMA and TGF- β 1 increases with the development of hepatic fibrosis. OPN probably participates in the activation of HSCs and the synthesis of extracellular matrix (ECM) in the development of hepatic fibrosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Osteopontin; Hepatic stellate cells; α -smooth muscle actin; Transforming growth factor- β 1

Dai WL, Huang HF, Lu CH. Correlation between expression of osteopontin and activation of hepatic stellate cells in hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4121-4126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4121>

摘要

目的: 探讨骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肝纤维化组织中的表达及其与 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)的相关性, 了解OPN与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)活化的关系.

方法: 健康♂SD大鼠40只, 随机分成正常对照

■背景资料

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变, 也是进一步向肝硬化发展的中间环节. 目前已明确肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的激活和增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节. HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞. 肝纤维化时HSCs可在多种细胞因子及活性氧自由基的作用下激活并转化为肌成纤维细胞, 产生大量以I、III型胶原为主的细胞外基质, 并分泌转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等各种促纤维化因子, 促进肝纤维化的发生和发展.

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■相关报道

既往研究显示OPN与肿瘤发生和转移有很大的关系,近期发现OPN与细胞外基质的分泌和纤维化有关,研究还证实OPN参与皮肤肌纤维母细胞的分化和激活,并能促进伤口愈合,在急性心肌炎病理过程中,OPN的表达水平与心肌纤维化程度相关,这些研究都提示OPN与纤维化发生发展密切相关。

组和四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝纤维化模型组。于造模2、4、6 wk末分批处死动物,分别采用RT-PCR和Western blot、免疫组织化学方法联合检测OPN、 α -SMA及TGF- β 1在肝纤维化组织中的表达。

结果: 正常对照组肝脏组织中OPN、 α -SMA及TGF- β 1均有极少量表达, CCl_4 注射2 wk后, OPN、 α -SMA、TGF- β 1表达开始增强, 2、4、6 wk肝组织中的表达强度呈明显递增趋势($P < 0.05$), OPN与 α -SMA及TGF- β 1表达均呈显著相关($r = 0.625$ 、 0.587 , $P < 0.05$)。

结论: OPN的阳性表达随着肝纤维化程度的加重而增强。在肝纤维化过程中OPN可能参与了HSC活化以及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 骨桥蛋白; 肝星状细胞; α -平滑肌肌动蛋白; 转化生长因子 β 1

核心提示: 本结果表明, 正常肝组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)微量表达, 而随着 CCl_4 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, α -SMA、OPN的表达均逐步增强, 至6 wk时达到高峰。统计学结果表明, OPN与 α -SMA在肝组织中的表达均同步增加, 两者呈显著动态相关。 α -SMA被认为是HSC激活的标志, 提示OPN可能与HSC的活化有关。

戴文玲, 黄海峰, 陆翠华. 骨桥蛋白在肝纤维化组织中的表达及其与肝星状细胞活化的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4121-4126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4121>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4121>

0 引言

肝纤维化是肝脏对各种慢性肝损伤的代偿反应, 导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞群和细胞因子的复杂改变^[1], 其特征是以胶原为主的ECM各成分因合成增多、降解相对不足而在肝内过量沉积。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性磷酸化糖蛋白, 广泛分布于各种组织中, 结构上与多种细胞外基质蛋白相似, 功能上具有细胞因子的特点, 在多种疾病的发生发展中起着重要作用。既往研究显示OPN与肿瘤发生和转移有很大的关系, 近期发现OPN与细胞外基质的分泌和纤维化有关^[2,3], 研究还证实OPN参与皮肤肌纤维母细胞的分化和

激活, 并能促进伤口愈合^[4], 在急性心肌炎病理过程中, OPN的表达水平与心肌纤维化程度相关^[5], 这些研究都提示OPN与纤维化发生发展密切相关。研究证实OPN在肺纤维化和肾纤维化的发生发展中发挥着重要作用。在肝纤维化的进展过程中可以检测到OPN, 并且其表达与肝纤维化的进程具有相关性。本研究采用四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)皮下注射制备肝纤维化模型, 分别用免疫组织化学、RT-PCR和Western blot联合检测OPN及与肝纤维化密切相关的 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)A及转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)在肝纤维组织中的动态表达, 在进一步了解OPN在肝纤维化发生发展中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 δ Sprague-Dawley大鼠40只, 体质量150 g \pm 20 g, 由南通大学动物实验中心提供; T-PCR两步法试剂盒购自大连宝生物有限公司产品; PCR扩增用引物由上海生工生物工程技术服务有限公司设计并合成; 一抗兔抗大鼠OPN与TGF- β 1、 α -SMA、二抗均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及给药: 用随机抽签法把SD大鼠分为正常对照组和模型组。正常对照组($n = 8$)给予橄榄油溶液3 mL/kg皮下注射, 2次/wk, 共6 wk; 模型组($n = 32$)分2、4、6 wk组, 给予600 mL/L CCl_4 (精制橄榄油配置)3 mL/kg皮下注射, 2次/wk, 每周称体质量1次, 根据体质量调整药物用量。

1.2.2 标本处理: 于造模2、4、6 wk末分批处死大鼠, 大鼠处死时距离 CCl_4 注射时间为72 h。第2、4周末分别处死模型组大鼠8只, 正常对照组2只; 第6周末处死模型组大鼠14只(死亡2只), 正常对照组4只。大鼠处死后, 取出肝脏, 取200 g冷生理盐水灌注冲洗残血后采用液氮快速冷冻并置-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待测; 另一部分于40 g/L甲醛固定, 用于免疫组织化学及纤维化组织病理学观察。

1.2.3 RT-PCR检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的表达: 从GenBank查取OPN与 α -SMA、TGF- β 1基因序列, 以Primer5软件设计引物各一对, OPN: 5'-ACTACAACCATGAGACTGGCAGTGGTTTGC-3', 5'-GAACTCTCTAATTCATGAGAAATGCGGAATTTCA-

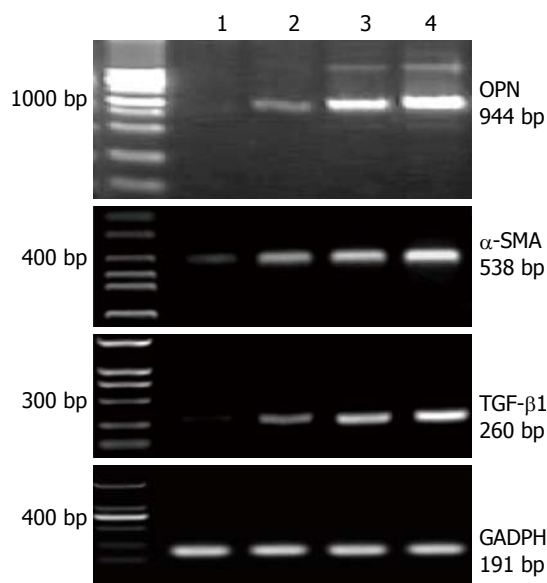


图1 OPN、 α -SMA、TGF- β 1 mRNA在各组中的表达。1: 正常对照组; 2: 2 wk模型组; 3: 4 wk模型组; 4: 6 wk模型组。OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子。

GATAC-3', 片段大小944 bp; α -SMA: 5'-CAGCCAGTCGCCATCAGGAACCT-3', 5'-GGCACGTTGTGAGTCACGCCA-3', 片段大小538 bp; TGF- β : 5'-GCTGCCCCGAGGCGGTGCTC-3', 5'-TCTGCAGGCGCAGCTCTGCA-3', 片段大小260 bp; 内参照GAPDH: 5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3', 5'-TCCACGACATACTCAGCAC-3', 片段大小191 bp。上述引物均由上海生工生物技术有限公司合成。采用TRIzol法提取肝组织总RNA, 对样本的定量与纯度分析, cDNA合成, PCR扩增, 产物经20 g/L琼脂糖凝胶电泳, 观察扩增条带。

1.2.4 Western blot检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1蛋白的表达: 取100 mg肝组织匀浆, 裂解液裂解后蛋白定量, 然后通过SDS-PAGE电泳分离, 硝酸纤维膜转膜后封闭2 h, 分别加入OPN与 α -SMA、TGF- β 1和 β -actin一抗孵育过夜, 加OPN与 α -SMA、TGF- β 1和 β -actin二抗孵育1 h后, 化学发光法显示蛋白条带, 胶片显影、定影。

1.2.5 免疫组织化学检测OPN与 α -SMA、TGF- β 1的表达: 在高倍镜下, 每张切片随机观察5个高倍视野, 根据细胞着色深度及阳性细胞数分别记分为0-3分, 着色深度以多数细胞呈棕色程度为准。凡细胞质或腺腔内黏液着浅棕色者为1分、棕色者为2分、深棕色者为3分、不着色为0分; 整块切片中阳性细胞占有所有细胞中的比例<30%为1分、30%-70%为2分、>70%为3分、

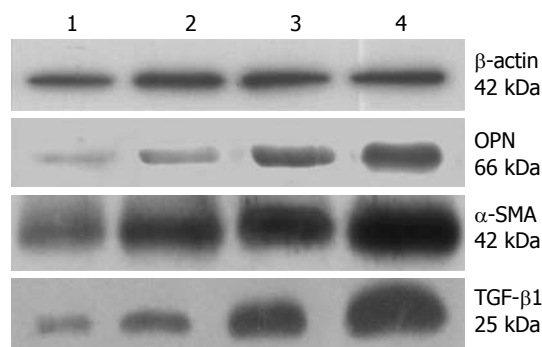


图2 OPN、 α -SMA、TGF- β 1蛋白在各组中的表达。1: 正常对照组; 2: 2 wk模型组; 3: 4 wk模型组; 4: 6 wk模型组。OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子。

无细胞着色为0分。根据上述2项指标相加的总分为4级, 0分为阴性(-)、2-3分为弱阳性(+), 4分为阳性(++), 5-6分为强阳性(+++), 4分以上为过表达, 同时设定阴性对照。

统计学处理 所有数据由Stata7.0统计软件进行分析。免疫组织化学资料采用秩变换方差分析统计和处理。RT-PCR资料采用捷达801分析软件中的凝胶分析软件对条带进行分析, 以各样本的平均积分吸光度值(LA)/各自GAPDH平均积分吸光度值(LA)来表示各目的基因的相对表达强度, 从而对各目的基因表达的强度作半定量分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPN与 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的表达 在肝纤维化模型组, 均扩增出944 bp大小的OPN片段, 正常对照组仅微量表达, OPN mRNA在2、4、6 wk表达逐渐增强, 内参照GAPDH片段大小为191 bp。经灰度扫描和与内参照比较分析发现, 随着CCl₄注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, OPN mRNA的表达逐渐增强, 到第6周时达到高峰。 α -SMA及TGF- β 1 mRNA在肝组织中的表达及变化趋势同OPN, 扩增的 α -SMA、TGF- β 1 mRNA的片段大小分别为538、260 bp, 上述3种mRNA的表达在各模型组与正常对照组表达差异有统计学意义($P<0.05$, 图1)。将RT-PCR半定量结果分析后发现, 随着CCl₄注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, 以上3种mRNA的表达逐渐增强, OPN与 α -SMA及TGF- β 1均有相关性有统计学意义($r = 0.625, 0.587, P<0.05$)。

2.2 Western blot检测OPN与 α -SMA及TGF- β 1蛋白的表达 OPN蛋白的相对分子质量为66 kDa,

■创新盘点

本研究采用CCl₄皮下注射制备肝纤维化模型, 分别用免疫组织化学、RT-PCR和Western blot联合检测OPN及与肝纤维化密切相关的 α -SMA及TGF- β 1在肝纤维组织中的动态表达, 在进一步了解OPN在肝纤维化发生发展中的意义。

■应用要点

各种肝损伤因素促发HSC活化并大量表达OPN,其后OPN上调TGF- β 1的水平,并在其介导下进一步诱导HSC的活化和增殖,加速肝纤维化的进程.所以抑制OPN的表达,有望能抑制HSC的活化,从而减轻肝纤维化.

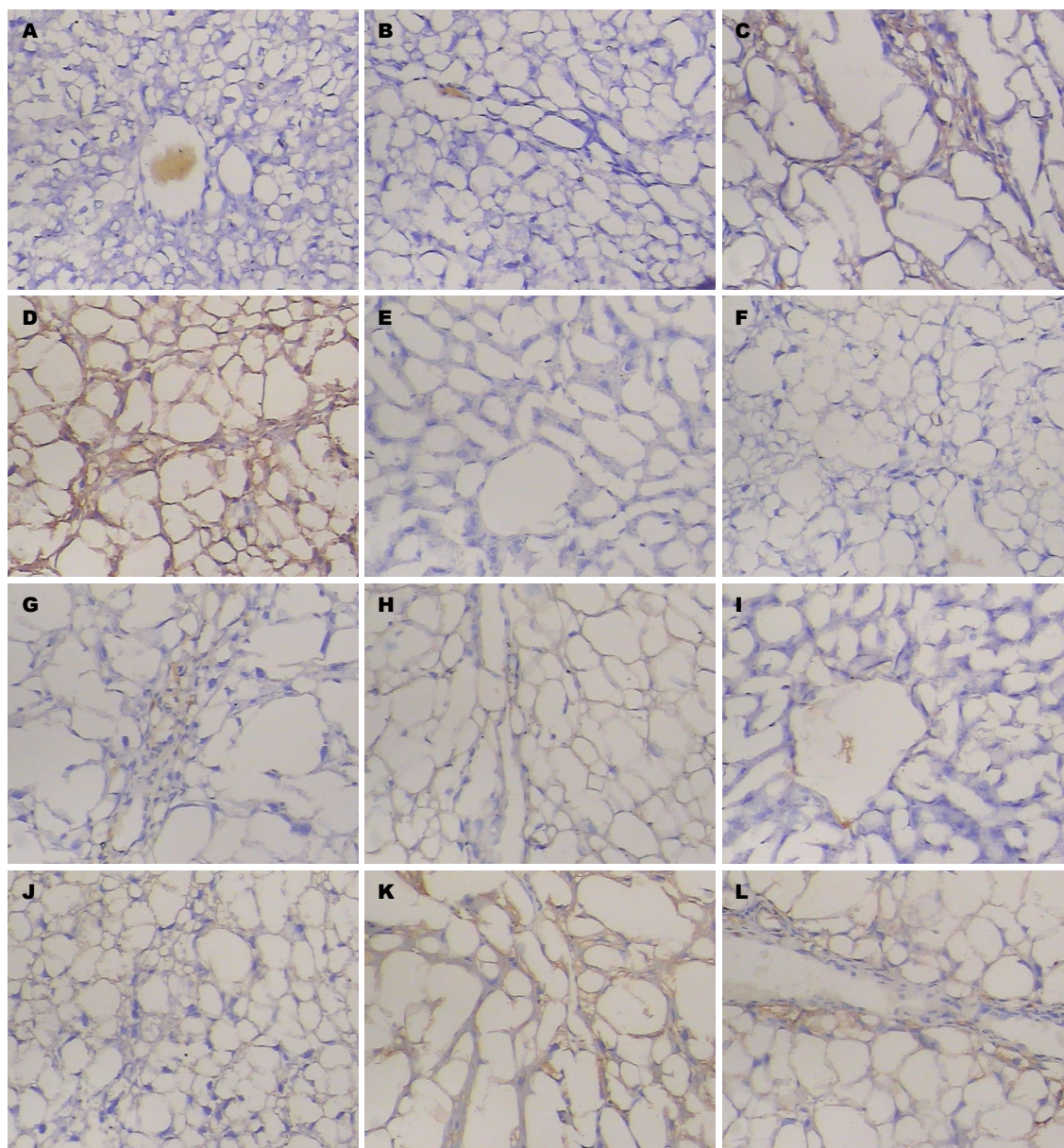


图3 免疫组织化学检测随肝纤维化加重, OPN、 α -SMA、TGF- β 1的变化($\times 200$). A-D: OPN的表达; E-H: α -SMA的表达; I-L: TGF- β 1的表达. OPN: 骨桥蛋白; α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; TGF- β 1: 转化生长因子.

在正常对照组微量表达,随着CCl₄注射时间的延长,表达逐渐增强, α -SMA及TGF- β 1的分子量分别为42和25 kDa,表达趋势同OPN蛋白.经统计学分析,OPN与 α -SMA及TGF- β 1在各组间的表达差异有统计学意义($P < 0.05$),在6 wk组的表达显著高于正常对照组($P < 0.05$,图2).

2.3 免疫组织化学检测OPN与 α -SMA及TGF- β 1的表达 所需组织经由40 g/L甲醛固定,脱水,石蜡切片,脱蜡至水,自动免疫组织化学染色仪染色,苏木素复染,自来水冲洗,蓝化,切片经梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树脂封固.正常肝脏组织OPN有微量表达, α -SMA及TGF- β 1表达弱阳性.CCl₄注射2 wk后, α -SMA及TGF- β 1

开始表达,OPN表达增多,主要分布在中央静脉及窦周细胞;随着CCl₄注射时间的延长,以上三者的表达逐渐增强,主要分布在门静脉、汇管区等纤维增生区域;到第6周时,上述3种蛋白质的表达最强.三者的表达部位相同(图3).

3 讨论

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变,也是进一步向肝硬化发展的中间环节.目前已明确HSC的激活和增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节^[6].HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞^[7].肝纤维化时HSCs可在多种细胞因子及活性氧自由基的作用下激

活并转化为肌成纤维细胞, 产生大量以 I、III 型胶原为主的细胞外基质, 并分泌 TGF- β 1、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等各种促纤维化因子, 促进肝纤维化的发生和发展. 从本研究结果看, OPN 在正常对照组仅微量表达, 而随着 CCl₄ 注射时间的延长, 伴随肝纤维化程度的加重, OPN 的表达逐步增强, 提示 OPN 可能参与了大鼠肝纤维化的形成过程, 其表达水平的上调与肝纤维化的发生和发展有关.

Lenga 等^[4]研究发现 OPN 在 CCl₄ 诱导的肝纤维化模型及培养的活化 HSC 中都高表达; 通过 cDNA 芯片检测发现, OPN 随着 HSC 活化的进展, 表达逐渐升高, 可能 OPN 的上调表达是 HSC 活化的一个关键通路^[8]. 陈宏辉等^[9]在酒精性肝纤维化大鼠模型中, 发现模型组从第 4 周开始中央静脉和邻近肝窦内皮细胞中 OPN 的表达即显著上调, 并与胶原纤维面积明显呈正相关. 有研究在博来霉素诱导 OPN 缺失的小鼠肺纤维化中发现了 OPN 缺失的小鼠肺纤维化组织中 I 型胶原、TGF- β 1、MMP-2 表达减少^[10].

本结果表明, 正常肝组织 α -SMA、OPN 微量表达, 而随着 CCl₄ 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, α -SMA、OPN 的表达均逐步增强, 至 6 wk 时达到高峰. 统计学结果表明, OPN 与 α -SMA 在肝组织中的表达均同步增加, 两者呈显著动态相关. α -SMA 被认为是 HSC 激活的标志, 提示 OPN 可能与 HSC 的活化有关. Lee 等^[11]的一项体外研究证实 OPN 可诱导大鼠肝星状细胞迁移、增殖以及 TIMP-2 和 MT1-MMP 的表达, 增加 MMP-2 的活性, 激活 HSC.

肝纤维化时, TGF- β 1 通过刺激 HSC 活化而在 ECM 的合成及纤维结构的重塑中发挥重要作用^[12], TGF- β 1 是公认的 HSC 活化最强烈的刺激因子^[13,14], 可通过 TGF- β 1/smad 信号传导通路直接激活 HSC 而形成肝纤维化. 本实验结果也证实, 在大鼠纤维化肝组织中, TGF- β 1 的表达较对照组明显增加, 随着 CCl₄ 注射时间的延长, 表达逐渐增强. 有研究^[11]显示了重组体 OPN 促进转化生长因子受体 TGF β R II 的表达, OPN 在 HSCs 中可通过促进 TGF β R II 的表达而诱导 HSC 分泌胶原. 另有研究显示 OPN 能直接诱导 TGF- β 1 mRNA 上调而引起肝纤维化^[15]. 本研究相关性分析表明, 随着肝纤维化程度的加重, TGF- β 1 与 OPN 的表达呈显著正相关, 结合本实验研究结果, 我们推测, 各种肝损伤因素促发 HSC 活化并

大量表达 OPN, 其后 OPN 上调 TGF- β 1 的水平, 并在其介导下进一步诱导 HSC 的活化和增殖, 加速肝纤维化的进程. 所以抑制 OPN 的表达, 有望能抑制 HSC 的活化, 从而减轻肝纤维化.

4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830 DOI: 10.1016/j.cca.2005.06.014]
- 2 Zahradka P. Novel role for osteopontin in cardiac fibrosis. *Circ Res* 2008; 102: 270-272 [PMID: 18276921 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.170555]
- 3 Philip S, Bulbule A, Kundu GC. Matrix metalloproteinase-2: mechanism and regulation of NF-kappaB-mediated activation and its role in cell motility and ECM-invasion. *Glycoconj J* 2004; 21: 429-441 [PMID: 15750784 DOI: 10.1007/s10719-004-5533-7]
- 4 Lenga Y, Koh A, Perera AS, McCulloch CA, Sodek J, Zohar R. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation. *Circ Res* 2008; 102: 319-327 [PMID: 18079410 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.160408]
- 5 Szalay G, Sauter M, Haberland M, Zuegel U, Steinmeyer A, Kandolf R, Klingel K. Osteopontin: a fibrosis-related marker molecule in cardiac remodeling of enterovirus myocarditis in the susceptible host. *Circ Res* 2009; 104: 851-859 [PMID: 19246678 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.193805]
- 6 Mattioli B, Straface E, Quaranta MG, Giordani L, Viora M. Leptin promotes differentiation and survival of human dendritic cells and licenses them for Th1 priming. *J Immunol* 2005; 174: 6820-6828 [PMID: 15905523]
- 7 Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 836-847 [PMID: 15459664 DOI: 10.1038/nrm1489]
- 8 Tokairin T, Nishikawa Y, Watanabe H, Doi Y, Omori Y, Yoshioka T, Yamamoto Y, Yoshida M, Nishimura T, Li Q, Arai H, Ishida A, Takada G, Enomoto K. Osteopontin expression in the liver with severe perisinusoidal fibrosis: autopsy case of Down syndrome with transient myeloproliferative disorder. *Pathol Int* 2008; 58: 64-68 [PMID: 18067644 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2007.02191.x]
- 9 陈宏辉, 张明亮, 阳学风, 封英娟, 严悦卿. 骨调素在酒精性肝纤维化中的表达. *胃肠病学和肝病杂志* 2005; 14: 45-48
- 10 Berman JS, Serlin D, Li X, Whitley G, Hayes J, Rishikof DC, Ricupero DA, Liaw L, Goetschkes M, O'Regan AW. Altered bleomycin-induced lung fibrosis in osteopontin-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L1311-L1318 [PMID: 14977630 DOI: 10.1152/ajplung.00394.2003]
- 11 Lee SH, Seo GS, Park YN, Yoo TM, Sohn DH. Effects and regulation of osteopontin in rat hepatic stellate cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 2367-2378 [PMID: 15548383 DOI: 10.1016/j.bcp.2004.08.022]
- 12 Sato M, Shegogue D, Gore EA, Smith EA, McDermott PJ, Trojanowska M. Role of p38 MAPK in transforming growth factor beta stimulation of collagen production by scleroderma and healthy dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 704-711 [PMID: 11918720 DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.01719.x]
- 13 Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL,

■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 讨论比较丰富, 具有一定的学术价值.

- Anania FA. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-771 [PMID: 11915021 DOI: 10.1053/jhep.2002.32029]
- 14 Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106 [PMID: 10796885 DOI: 10.1053/he.2000.6126]
- 15 Kawashima R, Mochida S, Matsui A, YouLuTuZ Y, Ishikawa K, Toshima K, Yamanobe F, Inao M, Ikeda H, Ohno A, Nagoshi S, Uede T, Fujiwara K. Expression of osteopontin in Kupffer cells and hepatic macrophages and Stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: a possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 527-531 [PMID: 10080931 DOI: 10.1006/bbrc.1999.0372]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制

王丽, 李显辉

王丽, 天津医学高等专科学校教务处 天津市 300222
李显辉, 天津市第三中心医院肾内科 天津市 300170
王丽, 硕士, 讲师, 主要从事医学微生物学与免疫学的相关研究.
作者贡献分布: 王丽与李显辉对此文所作贡献均等; 本研究由王丽与李显辉共同设计; 实验流程操作由王丽完成; 数据分析由李显辉完成; 本论文写作由李显辉与王丽完成.
通讯作者: 李显辉, 主治医师, 300170, 天津河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院肾内科. tcmlxh@sina.com
电话: 022-84331729
收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-12-09
接受日期: 2013-12-11 在线出版日期: 2013-12-28

Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease

Li Wang, Xian-Hui Li

Li Wang, Educational Administration Centre of Tianjin Medical College, Tianjin 300222, China
Xian-Hui Li, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Correspondence to: Xian-Hui Li, Attending Physician, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. tcmlxh@sina.com
Received: 2013-11-22 Revised: 2013-12-09
Accepted: 2013-12-11 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To assess the effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease (NALFD).

METHODS: SD rats were fed a high-fat diet to induce NAFLD. After 8 weeks, the model rats were randomly divided into a saline-treated group and a therapy group [bifidobacterium triple viable enteric-coated pills 5 g/(kg·d)]. At the end of 16 weeks, all rats were killed. Weight of the body and the liver, the indexes of serum lipid, liver enzyme and adenosine were measured. Pathological changes such as inflammatory cell infiltration and steatosis in the liver were observed.

RESULTS: Compared to the normal control group, serum levels of glutamic-oxalacetic transaminase (AST), glutamic-pyruvic transaminase (ALT), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), liver mass index, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) in

the NAFLD model group markedly increased, and obvious steatosis and inflammatory cell infiltration were noted. After treatment with probiotics, TG, AST, ALT, liver mass index, steatosis and inflammatory cell infiltration were improved significantly, and the level of adiponectin was increased.

CONCLUSION: Probiotics can remarkably alleviate dyslipidemia and liver steatosis in a rat model of NAFLD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Probiotics; Intestinal flora disturbance; Adipokine

Wang L, Li XH. Effect of probiotics treatment on rat non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4127-4132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4127>

摘要

目的: 观察益生菌制剂对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠的防治作用。

方法: 以高脂饲料喂养制备大鼠肥胖并发脂肪肝模型。8 wk后将造模成功大鼠分为治疗组和脂肪肝对照组。治疗组给予双歧杆菌三联活菌肠溶胶囊5g/(kg·d)灌胃; 脂肪肝对照组给予相同体积的生理盐水灌胃。于16 wk末处死大鼠, 称量肝脏及脂肪质量, 计算肝指数, 肝脏组织制作石蜡切片行HE染色, 观察病理变化; 检测各组大鼠血清中血脂、肝功能、脂肪因子等指标。

结果: 模型组大鼠与对照组相比, 血脂、肝功能水平及肝指数增高, 血清中白介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)水平显著升高, 光镜下肝脏出现明显脂肪变性及炎细胞浸润; 益生菌干

■背景资料

在全球范围内, 非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的高发病率及对人类的危害已成为全球医学关注和研究的热点, 但目前尚无良好治疗措施。肠道菌群失调在NAFLD的发病机制中的作用逐渐成为关注的热点, 国内外不少学者都在进行“肠道屏障功能”的研究, 目前在此方面已取得较多新进展。

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科; 郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■研究前沿

越来越多的医师倾向于将益生菌制剂等调整肠道菌群平衡的药物用于防治NAFLD的临床实践,但由于伦理条件所限,目前此类研究尚少,且缺少组织学变化结果支持。

预后的大鼠,与模型组大鼠比较,肝指数、肝功能、血脂降低,光镜下的肝脏脂肪变性及炎细胞浸润明显改善,血清中脂联素水平明显上升,IL-6、TNF- α 、HOMA-IR水平显著下降。

结论: 益生菌制剂可显著减轻NAFLD大鼠肝脏脂肪变性,改善肝功能,对NAFLD有显著治疗效果。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 益生菌; 肠道菌群紊乱; 脂肪因子

核心提示: 本研究应用高脂饮食诱导造成肥胖伴非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠模型,通过不良反应少,耐受性好的益生菌制剂-金双歧进行干预治疗,证实了益生菌制剂可显著减轻NAFLD大鼠肝脏脂肪变性,改善肝功能,对NAFLD有显著治疗效果。

王丽, 李显辉. 益生菌对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4127-4132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4127>

0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征,根据病变是否伴有炎症和纤维化分为单纯性脂肪肝、NAFLD及相关性肝硬化^[1]。目前认为NAFLD是代谢综合征的肝脏表现,其发病机制尚未完全阐明,近期研究发现其发生过程与肠道菌群的变化密切相关,肠道菌群紊乱和肠壁通透性增加等通过免疫反应介导,在NAFLD的发生、发展中有重要作用^[2]。有研究表明以乳酸菌、双歧杆菌为代表的益生菌与胆固醇代谢、胃肠道感染、细菌移位等有直接关系^[3]。目前益生菌制剂在NAFLD的应用上并不多见,且对NAFLD的治疗效果及机制并不清楚。

本实验中我们应用高脂饮食喂养造成大鼠NAFLD模型,应用益生菌制剂-金双歧进行干预治疗,观察益生菌对肝功能、肝脏内脂肪沉积及炎症因子的影响,为NAFLD的防治提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 5周龄健康清洁级♂SD大鼠50只,体重 150 ± 10 g,由天津医科大学实验动物中心

提供,清洁级实验动物编号: TJ23320130489。双歧杆菌乳杆菌三联活菌片(商品名: 金双歧)为内蒙古双奇药业股份有限公司产品;胰岛素放射免疫试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司;大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、脂联素、白介素6(interleukin-6, IL-6)放射免疫试剂盒(ELISA法)为武汉博士德生物科技有限公司提供。基础饲料配方: 标准粉35%、麸皮15.5%、大豆粉20%、玉米粉20%、豆油0.5%、鱼粉5%、骨粉2.5%、酵母粉1%; 高脂饲料配方: 基础饲料60%、熟猪油15%、鸡蛋黄粉10%、脱脂奶粉8%、干酪素5%、白砂糖2%。日本产日立U22000型双光束分光光度计, 7170型全自动生化分析仪, 旋涡混匀器, 低温高速离心机, OLYMPUS IX71型倒置显微镜。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型制备: 50只SD大鼠适应性喂养1 wk后,随机取12只作为正常对照组,喂以基础饲料;其余38只用于建立肥胖并发脂肪肝模型,喂以高脂饲料。饲养环境控制温度 22 ± 2 °C,湿度40%-70%,明暗周期为12 h,自由摄食饮水。8 wk末以造模大鼠体质量大于正常对照组平均体质量30%确定为肥胖大鼠,未达到此标准的大鼠舍弃。

1.2.2 药物干预: 对照组与模型组各取2只处死行肝脏HE染色,确定造模成功。将造模成功的24只大鼠分为2组,每组12只,继续喂以高脂饲料。对照组继续喂以基础饲料。治疗组给予双歧杆菌乳杆菌三联活菌溶液(4片加入20 mL蒸馏水混合均匀)5 g/(kg·d)灌胃,每日1次;模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。药物干预8 wk,第16周末,处死大鼠,取血待测。

1.2.3 标本的采集及处理: 给药8 wk末大鼠禁食水12 h后,断头处死大鼠,迅速打开腹腔,经腹主动脉取血,以12000 r/min分离血清, -80 °C低温贮存备用,用于检测血清中脂肪因子、血脂、肝功能;取出肝脏,称质量;取固定部位小块肝组织,置于40 g/L中性甲醛液中固定,常规石蜡包埋、切片后,行HE染色,用于病理观察;其余肝脏即刻入液氮中冷冻,并移至-80 °C冰箱冻存备用。

1.2.4 指标检测: 肝指数: 分别称量肝脏湿质量与体质量,计算肝/体比值,即为肝指数;总胆固醇(serum total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、丙氨酸转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT)、门冬氨酸转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)、空腹血糖(fasting

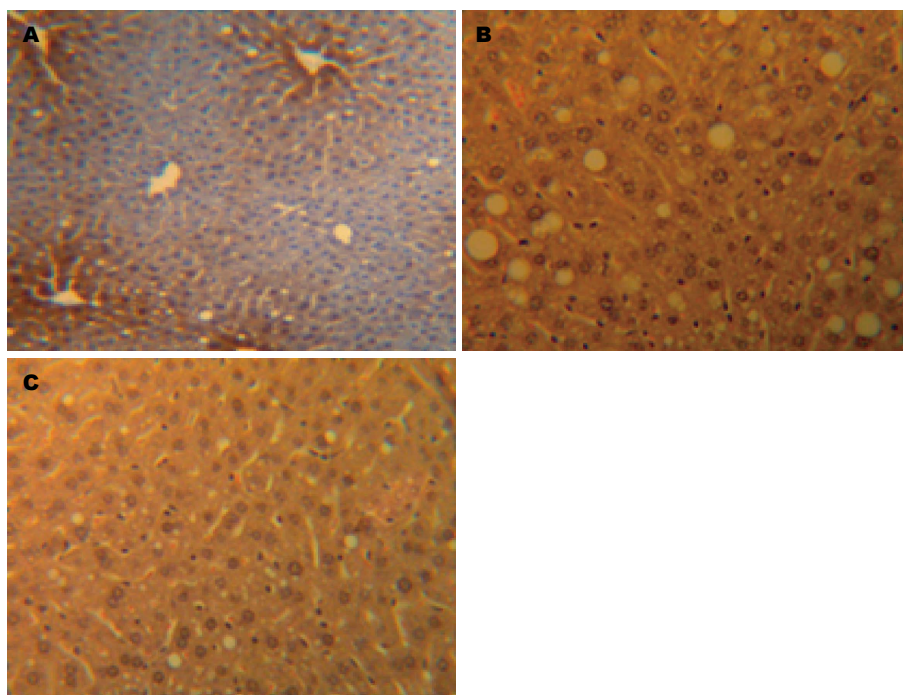


图 1 各组大鼠肝脏脂肪变性情况(HE × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

■相关报道
Marshall等出了“肠-肝轴”的概念, 肝-肠为解剖上的“远亲”, 功能上的“近邻”, 屏障功能受损的肠道被认为是多脏衰的“发动者”, 在NAFLD的发展过程中“肝-肠对话”扮演了重要角色, 肠道菌群在人体免疫、营养代谢等多方面起到重要作用.

表 1 各组大鼠血脂、肝功能、肝指数的比较(mean ± SD)

分组	n	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	肝指数
对照组	10	1.72 ± 0.16	0.48 ± 0.09	41.2 ± 7.2	145.8 ± 3.1	2.45 ± 0.24
模型组	12	2.30 ± 0.11	0.92 ± 0.08 ^b	88.4 ± 4.3 ^b	223.6 ± 4.9 ^b	3.78 ± 0.33 ^b
治疗组	12	2.24 ± 0.13	0.52 ± 0.03	55.1 ± 5.9	157.6 ± 2.7	2.58 ± 0.19

肝指数计算公式: 肝指数 = 肝湿重(g)/体质量(g) × 100%. ^b $P < 0.01$ vs 模型组. TC: 血清总胆固醇; TG: 甘油三酯; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

blood-glucose, FBG)均由全自动生化分析仪测定. 空腹胰岛素(fasting insulin, FNS): 放免法测定, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = $FPG \times FNS / 22.5$, 血清中TNF- α 、脂联素、IL-6采用ELISA法测定; 肝组织病理: 常规石蜡包埋、切片, 行苏木精-伊红(HE)染色. 光镜下对每张切片观察5个×400视野, 对肝脂肪变性程度和炎性细胞浸润程度进行分级. 由有经验的病理系教师盲法阅片做出诊断.

统计学处理 数据采用mean ± SD描述. 应用SPSS16.0统计学软件进行分析, 两组间比较用 t 检验, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠血脂、肝功能及肝指数的比较 模型组大鼠血清中TC、TG、ALT、AST及肝指数与正常对照组相比均显著增高($P < 0.01$); 与模型

组相比, 治疗组大鼠的TG、转氨酶及肝指数明显降低($P < 0.05$); 但与正常对照组比较仍然有所升高($P < 0.05$); 而治疗组TC水平较模型组无明显下降($P > 0.05$, 表1).

2.2 各组大鼠肝脏病理学变化 光镜下观察, 正常对照组大鼠肝小叶结构完整、清晰, 肝细胞围绕中央静脉呈放射状分布, 无脂质浸润, 汇管区及肝小叶内无炎细胞浸润(图1A). NAFLD模型组肝脏病理切片可见肝细胞排列紊乱、稀疏, 边界欠清晰, 肝小叶内呈现以大泡性为主的混合性脂肪变性. 同时可见局灶性汇管区炎细胞浸润, 炎细胞以淋巴细胞为主(图1B, 2B), 与正常对照组相比有显著差异($P < 0.01$). 与对照组相比, 治疗组仍存在脂肪变性, 肝细胞排列较稀疏; 但脂滴较小, 且范围局限, 汇管区浸润的炎细胞数量明显下降, 与模型组相比有显著差异($P < 0.01$, 图1C, 2C).

2.3 各组大鼠血清炎症因子及胰岛素抵抗指数

■创新盘点

本文从肠道生物屏障入手,介绍导致肠道菌群在NAFLD机制中的作用,又应用益生菌制剂,进行肠道菌群的调节以观察肝脏的组织学改变,具有较好的创新性和科研学术价值。

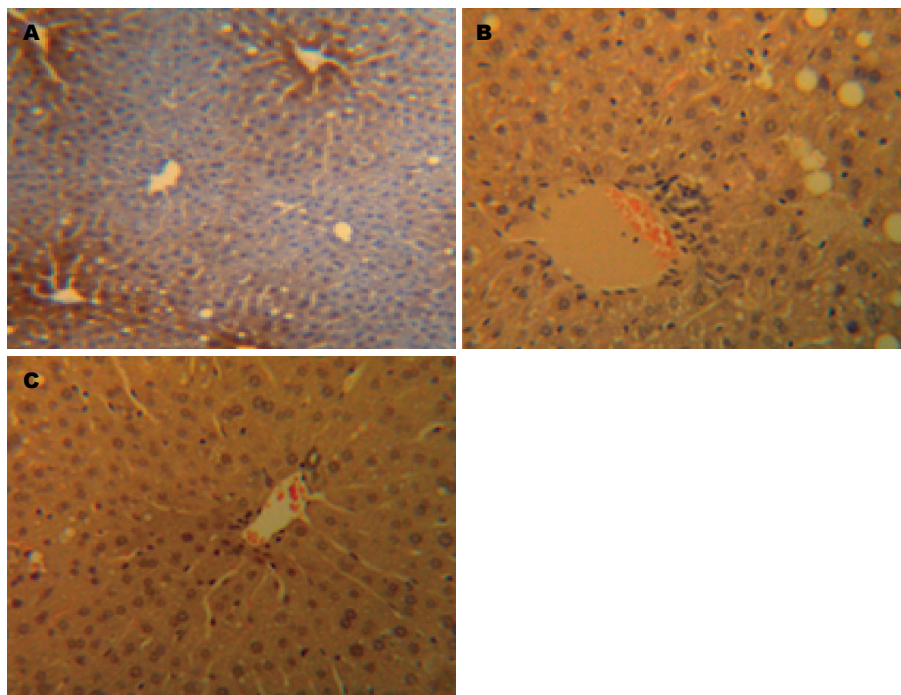


图2 各组大鼠肝脏炎症细胞浸润情况(HE × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

表2 各组大鼠血清炎症因子、胰岛素抵抗指数的比较(mean ± SD)

分组	n	IL-6(ng/L)	脂联素(μg/L)	TNF-α(ng/L)	HOMA-IR
对照组	10	0.45 ± 0.18	2.18 ± 0.39	1.92 ± 0.21	5.38 ± 1.12
模型组	12	1.13 ± 0.11 ^b	1.42 ± 0.08 ^b	2.47 ± 0.13 ^b	10.16 ± 0.29 ^b
治疗组	12	0.64 ± 0.13	2.03 ± 0.13	2.09 ± 0.36	6.26 ± 1.23

^b*P* < 0.01 vs 模型组. IL-6: 白介素6; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; HOMA-IR: 稳态胰岛素评价指数.

的比较 16 wk末, 相对于正常对照组大鼠, 模型组大鼠血清中IL-6、TNF-α及HOMA-IR显著升高, 而脂联素水平却明显降低(*P* < 0.01). 原本为NAFLD大鼠, 经过8 wk的益生菌治疗, 血清中HOMA-IR及IL-6、TNF-α水平明显下降(*P* < 0.05), 脂联素水平有所上升, 但仍未回到血清中正常水平(*P* > 0.05, 表2).

3 讨论

近年来, 随着生活水平的提高, 我国NAFLD的发病率逐年增加. 对于NAFLD发病的具体机制尚无定论, 既往研究中被广泛接受的是“二次打击”学说, 其核心理论为胰岛素抵抗及脂肪的氧化应激^[4]. 但该理论尚存争议. 基于解剖及功能上的相关性, “肠-肝轴”概念的提出, 指出肝脏与肠道存在多方面的相互作用, 共同为对方的免疫完整性提供条件^[5]. 肠道屏障功能在NAFLD的发病机制的作用逐渐成为学者研

究的重要方面. 肠道黏膜屏障是指肠道能防止肠腔内的有害物质如细菌和毒素等穿过肠黏膜进入体内其他组织器官和血液循环的结构和功能的总和^[6]. 肠道屏障从功能上分类, 包括机械屏障、化学屏障、免疫屏障、生物屏障. 具体来说, 机械屏障即肠道正常解剖结构, 包括黏液层、肠道上皮细胞及上皮间紧密连接; 化学屏障主要包括胃酸、各种消化酶、胆汁等; 免疫屏障主要由淋巴细胞及肠道黏膜分泌的免疫球蛋白A组成; 生物屏障由正常菌群的平衡构成, 是能量吸收, 储存的重要环境因素^[7]. 肠道屏障功能损伤主要表现为肠道菌群失调、小肠细菌过多生长、肠道黏膜通透性增高等. 肠道生物屏障保持着动态平衡. Spencer等^[8]的人体实验显示, 在极短时间内予饮食结构改变, 不同个体的肠道菌群构成即存在变化. 目前在肠道屏障功能损伤已取得较多新进展. 研究证实^[9], 在NAFLD的发病过程中存在小肠细菌过度生长

现象. 正常情况下, 肠道黏膜可有少量细菌及内毒素移位; 而在肝功能受损, 小肠内细菌, 尤其是革兰阴性需氧菌出现过度生长, 导致肠道黏膜生物屏障功能障碍, 内毒素在经过肝脏时未被完全清除, 过量的内毒素随血液进入到体循环, 形成肠源性内毒素血症. 内毒素进入体循环后可通过对肝细胞的直接作用而损伤肝脏, 并进一步激活枯否细胞产生TNF- α 、IL-6等炎症因子, 通过细胞因子的相互激活, 产生“瀑布效应”, 增加肠道黏膜通透性, 进一步加重肠道菌群紊乱, 形成恶性循环. 当肠道内菌群平衡被打破时, 人体能量代谢也相应发生改变^[10]. 正常人体肠道菌群发酵人的消化器官未消化的食物, 增加能量代谢效率, 从而给宿主提供更多能量^[11]. 而肠道菌群平衡被打破时, 条件致病菌增多, 而相应正常菌群减少, 使得能量代谢发生障碍. 当然, NAFLD同时也反过来促进肠道的菌群失调. 在NAFLD的发展过程中, 伴随着多种炎症介质的产生. IL-1、干扰素可抑制摄食中枢, 使食欲下降, 反射性使胃肠运动减弱; 前列腺素2、血小板激活因子能引起肠道运动功能异常, 胃肠功能紊乱, 移行性运动复合减弱或者消失, 其最重要的后果是使小肠部内容物淤滞, 从而导致菌群失调^[12].

本实验中, 我们应用高脂饮食诱导成功造成肥胖伴NAFLD大鼠模型, 照比应用药物损伤造模, 更接近于人类脂肪肝的成因. 本研究结果显示模型组大鼠与正常对照组大鼠相比出现了肥胖、血脂增高, 肝功能损害. 光镜下可见肝脏病理切片肝细胞排列紊乱, 广泛脂肪空泡及局灶性汇管区淋巴细胞浸润. NAFLD的发病机制错综复杂, 除了肠道菌群紊乱, 还有胰岛素抵抗及多种炎症因子都参与了其发生、发展过程. 多种致病因素在NAFLD中的作用及相互关系仍不清楚.

NAFLD的治疗目前尚无理想的药物, 近年来研究发现^[13]益生菌制剂对NAFLD的治疗有一定疗效. 其治疗原理正是利用肠道-肝脏的相互影响, 促进正常微生物的生长繁殖以抑制治病菌的生长, 减少细菌内毒素、炎症因子等有害物质的产生, 快速构建胃肠道微生态平衡, 维持肠道生物黏膜屏障的稳固. 基于此, 越来越多的医师倾向于将益生菌等调整肠道屏障的药物用于防治NAFLD的临床实践, 但由于临床大规模实验研究较少, 且存在伦理学问题, 结果尚存争议^[14,15].

本研究所应用的益生菌制剂是长型双歧杆菌、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的活菌制剂. 三者组成了一个在不同条件下都能生长、作用快而持久的联合菌群.

本研究证实了益生菌制剂能够改善NADLD大鼠肝功能及血脂异常, 并能够显著改善肝细胞的脂肪变性, 其机制可能与其调节肠道菌群从而减少炎症因子, 改善胰岛素抵抗有关. 肠道菌群失调在NAFLD发病机制中的作用不容忽视, 而益生菌制剂有不良反应少, 耐受性好等众多优点, 但就脂肪肝的防治方面, 其远期疗效及与胰岛素抵抗的因果关系还有待更深入的研究.

4 参考文献

- 1 Fassio E, Alvarez E, Domínguez N, Landeira G, Longo C. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 2004; 40: 820-826 [PMID: 15382171]
- 2 Shanab AA, Scully P, Crosbie O, Buckley M, O'Mahony L, Shanahan F, Gazareen S, Murphy E, Quigley EM. Small intestinal bacterial overgrowth in nonalcoholic steatohepatitis: association with toll-like receptor 4 expression and plasma levels of interleukin 8. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1524-1534 [PMID: 21046243 DOI: 10.1007/s10620-010-1447-3]
- 3 Festi D, Colecchia A, Sacco T, Bondi M, Roda E, Marchesini G. Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance. *Obes Rev* 2004; 5: 27-42 [PMID: 14969505 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2004.00126.x]
- 4 Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* 2006; 87: 1-16 [PMID: 16436109 DOI: 10.1111/j.0959-9673.2006.00465.x]
- 5 Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, Nardone G. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 471-476 [PMID: 22546554]
- 6 蒋朱明, 蔡威. 临床肠外与肠内营养. 第1版. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 364-365
- 7 张燕, 罗予. 肠道黏膜受损及保护机制的研究进展. *中国微生态学杂志* 2010; 22: 85-87, 91
- 8 Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH, Fodor AA. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology* 2011; 140: 976-986 [PMID: 21129376 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.049]
- 9 Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031 [PMID: 17183312 DOI: 10.1038/nature05414]
- 10 Panchal SK, Poudyal H, Waanders J, Brown L. Coffee extract attenuates changes in cardiovascular and hepatic structure and function without decreasing obesity in high-carbohydrate, high-fat diet-fed male rats. *J Nutr* 2012; 142: 690-697 [PMID: 22378327 DOI: 10.3945/jn.111.153577]

■应用要点

本实验从肠肝相互作用失调角度探讨益生菌对于由高脂饮食诱导的NAFLD的形成预防作用, 为进一步研究NAFLD发病机制及药物治疗开辟新的思路.

■同行评价

本文选题较新颖,从体外实验探讨益生菌对大鼠NAFLD的防治作用及机制,值得临床医生阅读。

- 11 Cao JJ, Gregoire BR, Gao H. High-fat diet decreases cancellous bone mass but has no effect on cortical bone mass in the tibia in mice. *Bone* 2009; 44: 1097-1104 [PMID: 19264159 DOI: 10.1016/j.bone.2009.02.017]
- 12 Gadaleta RM, van Mil SW, Oldenburg B, Siersema PD, Klomp LW, van Erpecum KJ. Bile acids and their nuclear receptor FXR: Relevance for hepatobiliary and gastrointestinal disease. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 683-692 [PMID: 20399894]
- 13 Yokota A, Fukiya S, Islam KB, Ooka T, Ogura Y, Hayashi T, Hagi M, Ishizuka S. Is bile acid a determinant of the gut microbiota on a high-fat diet? *Gut Microbes* 2012; 3: 455-459 [PMID: 22825495 DOI: 10.4161/gmic.21216]
- 14 Loguercio C, De Simone T, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Di Chicco M, Cartenì M. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2144-2146 [PMID: 12190198 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05942.x]
- 15 Loguercio C, Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, D'Auria MV, De Simone C, Del Vecchio Blanco C. Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 540-543 [PMID: 15942443 DOI: 10.1097/01.mcg.0000165671.25272.0f]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次,影响因子0.873,综合评价总分88.5分,分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位,分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位;其他指标:即年指标0.219,他引率0.89,引用刊数619种,扩散因子8.84,权威因子2 144.57,被引半衰期4.7,来源文献量758,文献选出率0.94,地区分布数26,机构分布数1,基金论文比0.45,海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系

黄适, 张涛, 陈远能, 黄斌, 王坚

黄适, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007
张涛, 陈远能, 黄斌, 广西中医药大学附属瑞康医院 广西壮族自治区南宁市 530011
王坚, 重庆医科大学药学院 重庆市 400016
黄适, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事肠易激综合征中西医结合防治的研究。
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFAA053099
广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1298003-7-2
作者贡献分布: 黄适负责课题设计; 数据处理、论文撰写由黄适与张涛共同完成; 研究过程由陈远能、黄斌及王坚完成。
通讯作者: 张涛, 副主任医师, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院。
453636438@qq.com
收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome

Shi Huang, Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Bin Huang, Jian Wang

Shi Huang, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Bin Huang, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Jian Wang, Chongqing University of Medicine, Chongqing 400016, China
Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation. No. 2012GXNSFAA053099; and the Guangxi Science and Technology Development Program. No. 1298003-7-2
Correspondence to: Tao Zhang, Associate Chief Physician, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi University of TCM, 10 Huadong Road, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 453636438@qq.com
Received: 2013-09-18 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To analyze the pathogenesis of irritable bowel syndrome (IBS) by observing the expression of TPRV1 and TPRV2 in the hypothalamus-pituitary-colon and visceral hypersensitivity in rats.

METHODS: Forty rats were divided into two groups randomly: a normal group and an IBS

group. Diarrhea-predominate IBS was induced by intragastrical administration of folium senae and bondage stress. At the end of the fourth week, all rats were sacrificed by intraperitoneal anesthesia. Histopathological changes were detected by HE staining. The expression of mast cells was detected by toluidine blue staining. The protein and mRNA expression of VR1 and VR2 was assayed by Western blot and real-time PCR. Visceral hypersensitivity was evaluated by colorectal distension and abdominal wall tension.

RESULTS: IBS was characterized by visceral hypersensitivity and mast cell activation. The expression of VR1 and VR2 in the hypothalamus-pituitary-colon was significantly increased in the IBS group compared with the normal group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: High expression of VR1 and VR2 may mediate visceral hypersensitivity and plays an important role in the development of IBS.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Transient receptor potential vanilloid-1; Transient receptor potential vanilloid-2; Visceral hypersensitivity; Irritable bowel syndrome

Huang S, Zhang T, Chen YN, Huang B, Wang J. Relationship between expression of TPRV1 and TPRV2 and visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4133-4139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4133>

摘要

目的: 检测肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)大鼠下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2表达, 探讨其与内脏敏感性的关系。

方法: 40只SPF级♂SD大鼠按体质量随机分为两组, 每组20只。除正常组外, 其余大鼠均采用番泻叶灌胃+束缚应激刺激4 wk法制备模型,

■背景资料

内脏敏感性在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)发病中占据关键地位已为消化专家所共识, 我们发现TPRV1作为配体门控非选择性阳离子通道受体, 在疼痛传导中至关重要, 基于上述研究角度出发, 探讨TPRV1表达在IBS发病中的意义, 将有望为IBS的防治提供新的靶点。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

■研究前沿

本研究发现IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA及其蛋白表达呈上升趋势,我们认为辣椒素受体升高可能通过增进内脏疼痛感觉从而影响肠道运动,导致腹痛、腹泻等症状发生。通过阻断辣椒素受体通道对于缓解疼痛无疑是有利的。

第4周末处死全部大鼠,截取下丘脑、垂体、结肠。应用HE染色、甲苯胺蓝染色分别检测结肠组织病理学及肥大细胞表达;应用Real-time PCR、Western blot技术分别检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2表达;应用腹部回缩反射结合腹壁紧张度综合评估大鼠内脏敏感性。

结果:模型组大鼠存在内脏敏感性增高和肥大细胞大量活化的特点,其下丘脑-垂体-结肠TPRV1和TPRV2 mRNA及其蛋白呈高表达变化;与正常组比较,有统计学意义($P<0.05$)。

结论:TPRV1和TPRV2高表达与肠易激综合征大鼠内脏敏感性增高呈正相应关系。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:辣椒素受体-1; 辣椒素受体-2; 内脏敏感性; 肠易激综合征

核心提示:肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)究其发病的重要病理机制是内脏敏感性增高,其中脑肠互动在IBS发病中占据关键地位。TPRV1、TPRV2作为重要的神经递质参与内脏疼痛信号转导的作用不容忽视,TPR通道在内脏痛觉感受和增敏机制占据重要地位,以TPRV1、TPRV2拮抗为靶点开展药物研究,将有望为IBS防治提供新的思路。

黄适, 张涛, 陈远能, 黄斌, 王坚. TPRV1、TPRV2在腹泻型肠易激综合征大鼠中的表达及其与内脏敏感性的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4133-4139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4133>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是指一组包括持续或间歇发作的腹痛、腹胀、排便习惯和大便形状异常而又缺乏生化学和形态学可资解释的症候群^[1]。几十年来人们不断提出各种各样的假说试图阐明IBS的发病机制及病理生理,但几乎没有一种单一的发病机制能解释所有IBS的临床表现^[2,3]。随着对IBS动力、感觉、炎症、免疫、激素、心理、等方面的研究不断深入,内脏感觉敏感性增高引发IBS为消化专家所共识,从辣椒素诱导辣椒素受体敏化→电压门控通道改变→ Ca^{2+} 内流→内脏敏感性异常的模型中,可知内脏敏感性异常在IBS的发病地位不容忽视^[4]。神经、免疫、内分泌系统的多种细胞及活性物质可能参与IBS患者内脏敏感性异

常的调节,内脏感觉异常是IBS的病理基础^[5]。本研究从下丘脑-垂体-结肠轴TPRV1、TPRV2蛋白及其mRNA表达,探讨其与内脏敏感性关系。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂SD大鼠40只,体质量200 g±20 g,由广西中医药大学动物实验中心提供[许可证号: SCXK(桂) 2005-0021]。全部大鼠适应性喂养1 wk后进行实验研究。40 g/L甲醛、无水乙醇、二甲苯、Harris苏木精液、伊红染色液、APES、1%盐酸乙醇等。手术器械、研钵、直灌胃针、金属夹、石蜡油、一次性注射器(1、5、10 mL); 0.5及1.5 mL Eppendorf管购自美国AEGEN公司。TP1020自动脱水机、RM2135徕卡切片机、HI1210徕卡摊片机、HI1220徕卡烘片机、EG1160徕卡自动包埋机等。甲苯胺蓝及无水乙醇购自上海国药集团,TPRV1、TPRV2一抗购自Santa公司、二抗、DAB显色液均购自武汉博士德生物科技公司,实时荧光定量PCR、Western blot委托广州吉坤生物技术有限公司完成。番泻叶生药: 购自本院药方。生产单位: 广东康美中药饮片厂。将番泻叶置60℃烘箱中密封水浸泡12 h,纱布过滤、浓缩为1g生药/100 mL药液。浓缩的条件为60℃冷风吹液面。4℃储存备用。

1.2 方法

1.2.1 IBS模型制备:♂SD大鼠40只,适应性喂养1 wk后称体质量,随机分为正常组、模型组,每组20只。同步饲养,等剂量生理盐水灌胃4 wk,模型组大鼠予4℃的10 g/kg番泻叶液每日1次/d,连续4 wk,第3周开始模型组灌胃后用宽胶纸束缚两前肢1 h,1次/d。持续到第4周。第4周末处死全部大鼠,取下丘脑、垂体、全部结肠,分两部分,分别置于10%中性甲醛中固定及放入液氮中冷冻备测。

1.2.2 指标检测:(1)结肠组织病理学检测: 常规石蜡包埋,4 μm切片,HE染色,光镜下分析肠道病理变化;(2)甲苯胺蓝染色检测结肠MC表达: 50℃烘片2 h后,石蜡切片常规脱蜡至水。将切片浸入10%甲苯胺蓝液1 min,自来水清洗至肉眼未见染料附着。继而将切片浸入90%乙醇分色,显微镜下观察分色情况,至紫红色颗粒清晰,约30-60 s,蒸馏水清洗1 min中止分色。常规脱水、透明、封片。应用Image-pro PLUS 4.1版图像分析软件,每例切片随机选择3个视野,光镜下观察,放大20倍,进行肥大细胞计数;(3)Western

表 1 TPRV1、TPRV2、GAPDH引物序列

引物序列	上游	下游	扩增片段(bp)
TPRV1	5'-TTGGATTTCACAGCCGTAG-3'	5'-AGAGTTACCTGGCCTGCAGG-3'	113
TPRV2	5'-GGCATACACAGAAGGCTCCAC-3'	5'-TCCCTGTCAATCTGCAGCAG-3'	108
GAPDH	5'-CGTGTTCCTACCCCAATGT-3'	5'-TGTCATCATACTTGGCAGGTTTCT-3'	73

表 2 大鼠腹部回缩反射腹部撤离反射评分比较($n = 20$, mean \pm SD, mL)

分组	腹部抬高	背部拱起
正常组	0.72 \pm 0.08	1.14 \pm 0.12
模型组	0.38 \pm 0.03 ^a	0.57 \pm 0.06 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常组.

blot检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达: 应用Western blot法, 检测TPRV1、TPRV2蛋白表达(具体步骤: 蛋白制备-SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳-转膜、封闭、抗原抗体反应-显色、检测分析); (4)实时荧光定量PCR检测下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达: 应用实时荧光定量PCR法(Real-time PCR), 检测TPRV1、TPRV2 mRNA表达(具体步骤: 组织总RNA提取-Primer5.0软件设计引物-逆转录cDNA-Real time PCR反应体系扩增-目的基因相对mRNA表达水平的计算分析). 引物序列(GenBank上查找目的基因mRNA序列, 在CDS区设计特异性引物), 反应条件为: 93 $^{\circ}$ C 3 min, 然后93 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 共40循环(表1).

1.2.3 大鼠内脏敏感性检测: (1)评估大鼠的腹部撤离反射(abdominal withdrawal reflex, AWR): 采用结肠扩张法(colorectal distension, CRD)刺激^[6], 乙醚麻醉下, 将石蜡油润滑后的动脉栓子清除术导管经肛门插入, 气囊末端距离肛门1 cm. 用胶布把导管和大鼠尾巴根部缠在一起, 固定气囊. 大鼠苏醒后, 将其放在特制的透明塑料笼内, 大鼠在此笼内只能前后运动, 不能转身. 30 min后待大鼠适应环境后, 逐渐注气扩张肠道, 分别观察引起大鼠腹部抬起以及背部拱起的容量阈值, 进行评估. 用AWR行为评分, AWR 1分看做是大鼠感觉容量阈值, 2分作为痛觉敏感阈值 4分作为痛觉最大耐受容量阈值; (2)评估大鼠的腹壁紧张度^[7]: 每组随机挑选3只大鼠, 用苯巴比妥(30 mg/kg)麻醉, 将一银制双极电极缝合到腹股沟韧带上方、距中线1.5 cm的一侧腹外斜肌

上. 电极的游离端经皮下隧道置于颈后, 用胶布固定. 手术后5 d开始肌电记录. 乙醚麻醉下, 将上述球囊导管经肛门插入直肠内, 球囊末端距离肛门1 cm, 电极导线的两端连接电生理记录仪. 大鼠苏醒30 min后, 分别在0、0.4、0.8、1.2和1.6 mL不同容量下进行直肠扩张. 每次膨胀持续5 min, 记录5 min内腹壁收缩数量, 每次扩张结束时, 将水回抽, 检测球囊有无漏水. 用Power Lab电生理记录仪记录腹壁肌电活动, 高频滤过设置在10 Hz, 低频滤过在1 kHz, 电压在1 mV. 肌电活动增高超过基线水平100 μ V以上认为是一次有意义的腹壁收缩活动.

统计学处理 实验数据以mean \pm SD表示, 用SPSS11.5 For Windows One-way Analysis Of Variance(One-way ANOVA)进行多组间方差分析, 方差齐时用LSD法, 方差不齐时用Tamane'S T2法.

2 结果

2.1 大鼠一般情况变化 正常组大鼠体质量明显增加, 大便正常, 耗食量正常; 造模大鼠均出现不同程度体质量增长缓慢或下降, 自第2天始出现大便次数增多、稀便、肛门口污秽、拱背、萎靡、蜷卧少动、喜聚堆等表现.

2.2 大鼠内脏敏感性检测

2.2.1 大鼠腹部回缩反射: 正常组引起大鼠腹部抬高和背部拱起的扩张容量阈值分别为0.72 mL \pm 0.08 mL和1.14 mL \pm 0.12 mL; 模型组腹部抬高和背部拱起阈值分别为0.38 mL \pm 0.03 mL和0.57 mL \pm 0.06 mL(表2).

2.2.2 大鼠腹壁紧张度: 球囊无扩张时, 大鼠腹壁外斜肌通常无肌电活动, 5 min记录期间内由于大鼠偶尔身体移动, 会记录到幅度较小的腹壁收缩反应. 在0.4 mL容量时, 正常组腹壁收缩并不明显, 模型组腹壁收缩数目达4.27次/5 min \pm 0.21次/5 min, 有统计学意义($P < 0.05$). 0.8 mL扩张容量下, 模型组腹壁收缩活动均较正常组显著增高, 收缩数目达8.43次/5 min \pm 1.15次/5 min($P < 0.05$).

■ 相关报道

国外文献报道TPRV1和PGP5蛋白共表达在IBS内脏敏感性增高及腹痛有着重要意义, 但相关TPRV1受体拮抗剂因价格昂贵、不良反应大而无法市场化. 我们研究发现TPRV1和TPRV2在IBS发病中的地位不容忽视, 这对于IBS的新药物研发提供新的思路, 合成广泛选择性TRPV阻断剂对于IBS防治是值得深入探讨.

■创新盘点

课题组从下丘脑-垂体-结肠轴即脑肠轴角度, 探讨TRPV表达及其意义, 不同于以往研究仅观察结肠TRPV表达在IBS发病中的意义是本文的创新之处。

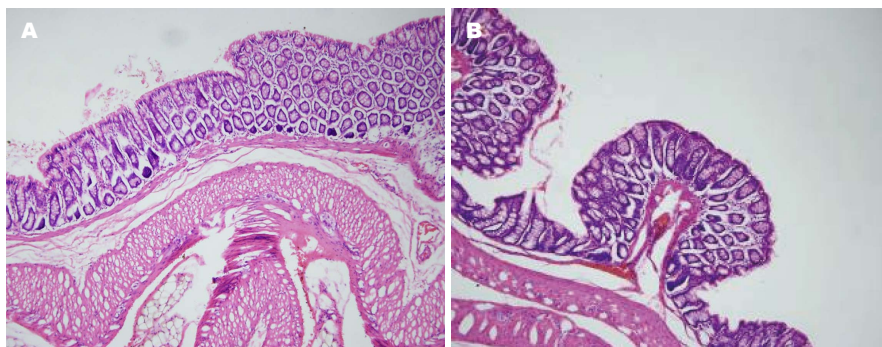


图1 肠易激综合征病理结果($\times 10$). A: 模型组; B: 正常组.

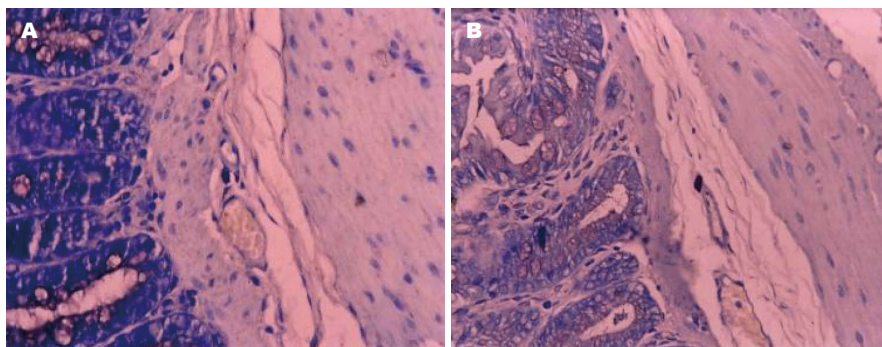


图2 肠易激综合征甲苯胺蓝染色肥大细胞表达结果($\times 20$). A: 模型组; B: 正常组.

表3 不同浓度下大鼠腹壁紧张度评分比较 ($n = 20$, mean \pm SD, mL)

分组	0.4 mL	0.8 mL	1.6 mL
正常组	0.53 \pm 0.12	3.12 \pm 1.01	17.58 \pm 4.31
模型组	4.27 \pm 0.21 ^a	8.43 \pm 1.15 ^a	18.14 \pm 5.26 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常组.

1.6 mL扩张容量下所有大鼠的腹壁收缩数目差异均无显著性($P > 0.05$, 表3).

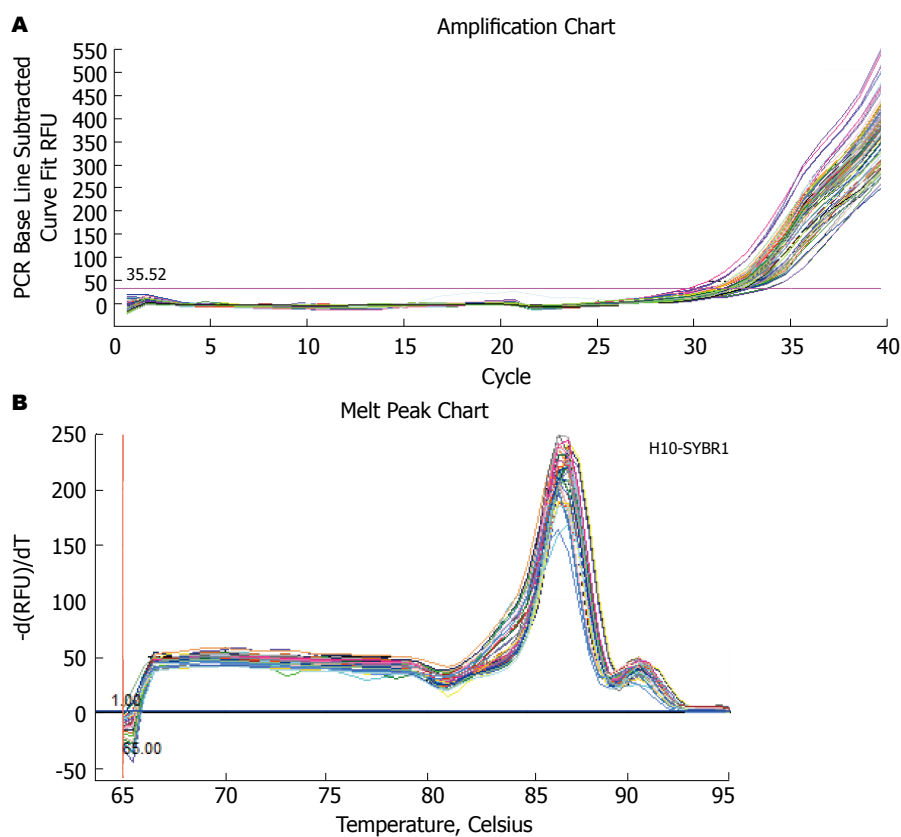
2.3 大鼠组织病理学变化 模型组大鼠结肠HE染色, 镜下提示结肠壁各层结构均未见明显异常改变, 偶见结肠黏膜下层轻度血管扩张, 少量炎细胞浸润. 与正常组比较, 无明显差异(图1).

2.4 大鼠甲苯胺蓝染色肥大细胞表达 甲苯胺蓝染色法结果表明, 镜下见MC胞浆被染成紫红色, 胞核呈蓝色, 散布于黏膜层和黏膜下层的小血管周围, 细胞呈圆形或梭形或形状不规则, 紫红色颗粒围绕细胞核散在分布或呈不规则形状, 其中脱颗粒者胞膜破裂, 有颗粒涌出, 细胞不规则; 未脱颗粒者胞膜完整, 胞质均匀. 与正常组比较, 模型组MC活化数目显著增多(图2).

2.5 IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达 正常组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、

TPRV2 mRNA表达分别为TPRV1(0.37 ± 0.11 , 0.39 ± 0.07 , 0.45 ± 0.04); TPRV2(0.52 ± 0.10 , 0.47 ± 0.08 , 0.59 ± 0.09). 模型组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达分别为TPRV1(1.06 ± 0.12 , 1.00 ± 0.07 , 1.43 ± 0.23); TPRV2(1.15 ± 0.16 , 1.09 ± 0.09 , 1.29 ± 0.14), 两组比较有统计学意义($P < 0.05$)(图3).

2.6 IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达 正常组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达, 分别为TPRV1(0.23 ± 0.01 , 0.31 ± 0.03 , 0.52 ± 0.08); TPRV2(0.21 ± 0.01 , 0.43 ± 0.04 , 0.37 ± 0.07). 模型组下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达分别为TPRV1(0.56 ± 0.05 , 0.67 ± 0.03 , 1.32 ± 0.12); TPRV2(0.69 ± 0.06 , 0.72 ± 0.04 , 1.27 ± 0.17), 有统计学意义($P < 0.05$)(图4).



■应用要点

课题组发现 TPRV1、TPRV2 蛋白及其 mRNA 表达在 IBS 的发病中占据重要地位, 有望为 IBS 新药研发以及 IBS 防治提供新的思路。

图 3 肠易激综合征下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA表达. A: TPRV1样本扩增曲线图; B: TPRV1样本溶解曲线图.

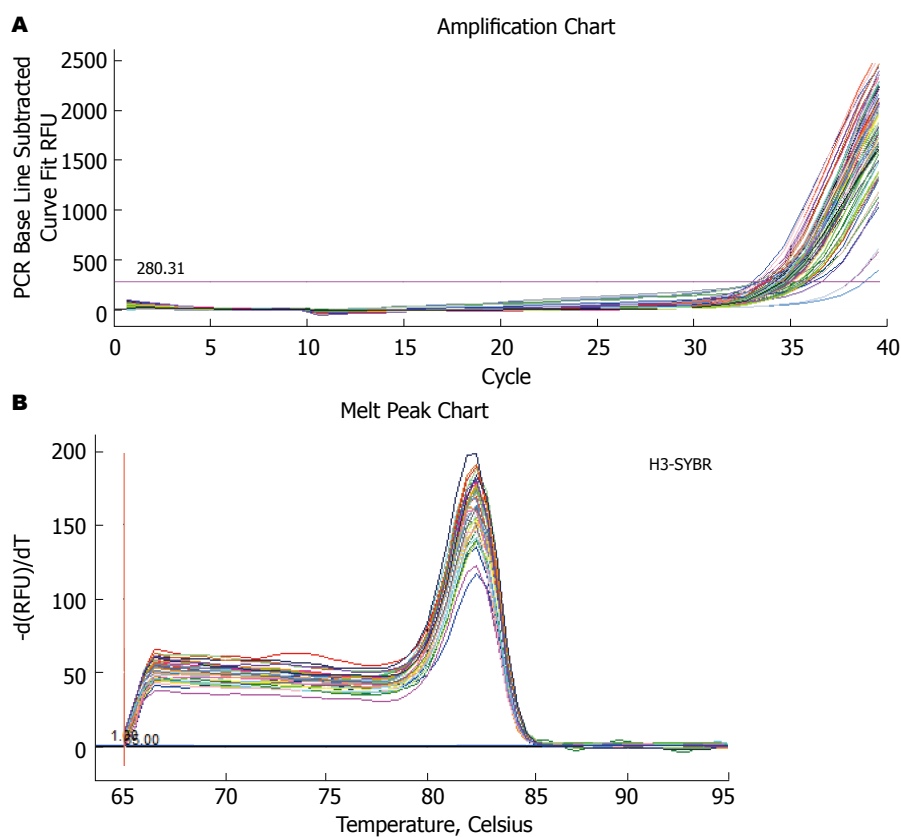


图 4 肠易激综合征-D下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2蛋白表达. A: TPRV2样本扩增曲线图; B: TPRV2样本溶解曲线图.

■同行评价

本文研究方法可靠, 结论可信, 对于IBS的机制研究探讨有一定意义。

3 讨论

流行病学资料表明^[8], 发达国家普通人群中IBS发病率很高, 英国、美国人群IBS患病率为5%-25%。国内学者在北京地区的调查发现^[9], 符合Manning标准和Rome标准校正后的IBS人群患病率分别为7.01%和0.82%。广州市居民IBS患病率为5.6%, 普通门诊及消化专科门诊中IBS所占比例分别为10.1%、34.3%。女性高于男性, 便秘型占27.0%, 腹泻型占62.3%, 其他型占9.8%^[10]。IBS目前发病机制尚未明确, 因而尚缺乏有效针对性的治疗手段, 由此每年因此而耗费数百亿元^[11]。依据罗马III标准, 腹痛或腹部不适是诊断IBS的必备条件, 而内脏敏感性增高时腹痛或腹部不适的主要病理基础^[12], IBS究其发病的重要病理机制目前主要是内脏敏感性增高, 其中脑肠互动在IBS发病中占据关键地位。TPRV1、TPRV2作为重要的神经递质参与内脏疼痛信号转导的作用不容忽视^[13]。

TPR(辣椒素受体)家族是存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一个配体门控非选择性阳离子通道, 可被辣椒素、 H^+ 和伤害性热刺激($>43^{\circ}C$)激活^[14]。TPRV1是一种多型信号探测器及多种疼痛刺激的整合器, 主要分布在背根神经中, 可以被多种炎症介质激活, 如: 生长因子、神经递质、肽类物质、小分子蛋白、类脂、化学增活素及细胞增活素等, 在痛觉的产生和内脏痛觉敏感性增强中扮演重要角色^[6,15]。蛋白水解酶可通过激活蛋白酶激活型受体2、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)途径增强TRPV1的敏感性, 结肠内给药, 引起内脏痛觉过敏。TPRV2主要分布在感受伤害性热和机械刺激的有髓A δ 神经和少部分C神经纤维中, 与TPRV1有50%的同源性, 与炎症引起的痛觉增敏可能相关^[16,17]。本研究发现, IBS下丘脑-垂体-结肠TPRV1、TPRV2 mRNA及其蛋白表达呈上升趋势, 与正常组比较, 有统计学意义; 上述指标变化与内脏敏感性增高呈正相关。我们认为辣素受体升高可能通过增进内脏疼痛感觉从而影响肠道运动, 导致腹痛、腹泻等症状发生。

总之, TPR通道在内脏痛觉感受和增敏机制占据重要地位, 以TPRV1、TPRV2拮抗为靶点开展药物研究, 将有望为IBS防治提供新的思路。

4 参考文献

- 1 Drossman DA, Dumitrascu DL. Rome III: New standard for functional gastrointestinal disorders. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 237-241 [PMID: 17013448]

- 2 Barbara G, Stanghellini V. Biomarkers in IBS: when will they replace symptoms for diagnosis and management? *Gut* 2009; 58: 1571-1575 [PMID: 19923339 DOI: 10.1136/gut.2008.169672]
- 3 Videlock EJ, Adeyemo M, Licudine A, Hirano M, Ohning G, Mayer M, Mayer EA, Chang L. Childhood trauma is associated with hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1954-1962 [PMID: 19737564 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.08.058]
- 4 Akbar A, Walters JR, Ghosh S. Review article: visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: molecular mechanisms and therapeutic agents. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 423-435 [PMID: 19493256 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04056.x]
- 5 孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰. 肠易激综合征大鼠内脏敏感性和脊髓背角5-HT和c-fos的表达. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2718-2722
- 6 Winston J, Shenoy M, Medley D, Naniwadekar A, Pasricha PJ. The vanilloid receptor initiates and maintains colonic hypersensitivity induced by neonatal colon irritation in rats. *Gastroenterology* 2007; 132: 615-627 [PMID: 17258716 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.014]
- 7 Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-G856 [PMID: 17110521 DOI: 10.1152/ajpgi.00400.2006]
- 8 Camilleri M. Genetics and irritable bowel syndrome: from genomics to intermediate phenotype and pharmacogenetics. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2318-2324 [PMID: 19655247 DOI: 10.1007/s10620-009-0903-4]
- 9 潘国宗, 鲁素彩, 柯美云, 韩少梅, 郭慧平, 方秀才. 北京地区肠易激综合征的流行病学研究: 一个整群、分层、随机的调查. *中华流行病学杂志* 2000; 21: 26-30
- 10 熊理守, 陈旻湖, 陈惠新, 许岸高, 王伟岸, 胡品津. 广东省社区人群肠易激综合征的流行病学研究. *中华医学杂志* 2004; 84: 14-16
- 11 Zhao Y, Zou D, Wang R, Ma X, Yan X, Man X, Gao L, Fang J, Yan H, Kang X, Yin P, Hao Y, Li Q, Dent J, Sung J, Halling K, Wernersson B, Johansson S, He J. Dyspepsia and irritable bowel syndrome in China: a population-based endoscopy study of prevalence and impact. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 562-572 [PMID: 20497141 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04376.x]
- 12 姜敏, 汤浩, 刘峥艳, 张义侠, 傅宝玉. 肠易激综合征内脏感知异常与临床症状的相关性. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 561-564
- 13 Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol Ther* 2011; 131: 142-170 [PMID: 21420431 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.006]
- 14 Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Brydon WG, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. *Gut* 2010; 59: 767-774 [PMID: 20551462 DOI: 10.1136/gut.2009.194449]
- 15 van den Wijngaard RM, Klooker TK, Welting O, Stanisor OI, Wouters MM, van der Coelen D, Bulmer DC, Peeters PJ, Aerssens J, de Hoogt R, Lee K,

- de Jonge WJ, Boeckstaens GE. Essential role for TRPV1 in stress-induced (mast cell-dependent) colonic hypersensitivity in maternally separated rats. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1107-1e94 [PMID: 19523146]
- 16 Peng HY, Chen GD, Tung KC, Lai CY, Hsien MC, Chiu CH, Lu HT, Liao JM, Lee SD, Lin TB. Colon mustard oil instillation induced cross-organ reflex sensitization on the pelvic-urethra reflex activity in rats. *Pain* 2009; 142: 75-88 [PMID: 19167822 DOI: 10.1016/j.pain.2008.11.017]
- 17 Scalera A, Loguercio C. Focus on irritable bowel syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16: 1155-1171 [PMID: 23047498]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医中药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红

■背景资料

腺瘤-腺癌序列是结直肠癌发生的主要途径之一, 近年研究发现锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)是一种新的腺瘤类型, 其可能通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-腺癌”这一锯齿状通路发展为结直肠癌(colorectal cancer, CRC).

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038
刘揆亮, 医学博士, 医师, 主要从事结直肠癌及其癌前病变的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本文由林香春设计; 研究过程由刘揆亮、司空银河、林香春、吴静及刘红共同完成; 数据分析由刘揆亮、司空银河及林香春完成; 论文写作由刘揆亮与林香春完成.

通讯作者: 林香春, 副教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科. xiangchunlin@hotmail.com

电话: 010-63926370

收稿日期: 2013-09-16 修回日期: 2013-10-22

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

Colonoscopic characteristics of serrated adenomas

Kui-Liang Liu, Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Hong Liu

Kui-Liang Liu, Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Hong Liu, Beijing Shijitan Hospital, CMU, Beijing 100038, China

Correspondence to: Xiang-Chun Lin, Chief Physician, Associate Professor, Beijing Shijitan Hospital, CMU, 10 Yangfangdian Tieyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. xiangchunlin@hotmail.com

Received: 2013-09-16 Revised: 2013-10-22

Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the morphologic features of serrated adenomas (SA) by regular high-resolution colonoscopy with narrow band imaging (NBI).

METHODS: A retrospective analysis was performed of the imaging data for patients with colorectal SA who underwent colonoscopy between March 2010 and June 2013. A comparison of colonoscopic features was made between SA and hyperplastic polyps (HP) with comparable predicted diameter.

RESULTS: A total of 50 SA from 35 patients and 50 HP from 42 patients were included. More SA were located in the right colon than in the left colon (48% vs 36%, $P > 0.05$). Type IIa or laterally spreading tumors (LST) were more commonly seen in SA ($P = 0.019$) and II-O pit pattern was more commonly seen in HP ($P = 0.000$). SA

more frequently showed the features of vague margins, irregular shape, cloud-like surface and dark bleeding spots in crypts (all $P < 0.001$). The sensitivities of II-O pit pattern, cloud-like surface, indistinct border, irregular shape and dark bleeding spots in the crypts for predicting SA were 44%, 92%, 30%, 66% and 76%, respectively, and the specificities were 98%, 98%, 98%, 94% and 92%, respectively. The sensitivity and specificity of the presence of three or more above characteristics for predicting SA were 80% and 100%, respectively.

CONCLUSION: SA have certain colonoscopic features, which can aid in differentiating SA from HP.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Serrated adenoma; Hyperplastic polyp; Colonoscopy

Liu KL, Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu H. Colonoscopic characteristics of serrated adenomas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4140-4145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4140>

摘要

目的: 探讨高清晰结肠镜白光及窄带成像(narrow band imaging, NBI)模式下锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)的形态特点及其与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)的鉴别要点.

方法: 回顾性分析2010-03/2013-06在我院消化内科经高清晰结肠镜(CF-H260)检查诊断的结肠SA的内镜下形态学特点(边界、外观、血管网形态),与按大小配对的HP进行比较.

结果: 共纳入来自35例患者的SA 50例,来自42例患者的HP 50例. SA位于右半结肠者多于HP(48% vs 36%),但差异没有统计学意义($P > 0.05$). SA大体形态呈IIa及LST型者多于HP(11例 vs 0例, $P < 0.05$). SA中隐窝开口呈I型者少于HP(25例 vs 0例, $P < 0.001$);呈II型开

■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

大型(Ⅱ-O)者多于HP(22例 *vs* 0例, $P<0.001$). SA中出现边界不清、形态不规整、积云样结构及息肉表面隐窝内点状血管网者比例均高于HP($P<0.001$). Ⅱ-O型隐窝、积云样结构、边界模糊、形态不规整、隐窝内点状血管预测SA的敏感性分别为44%、92%、30%、66%和76%, 特异性分别为98%、98%、98%、94%和92%; 同时具备3种或3种以上形态学特点预测SA的敏感性为80%, 特异性为100%.

结论: SA具有一定的表面形态特点, 高清晰非放大内镜下对病变表面形态特征观察有助于SA与HP的鉴别.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 锯齿状腺瘤; 增生性息肉; 结肠镜

核心提示: 本文结合Hazewinkel等与Kimura有关放大内镜联合窄带成像(narrow band imaging, NBI)下无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)表面形态学特征报道, 对高清晰非放大内镜白光及窄带成像内镜(narrow band imaging)下锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)的表面形态学特点进行回顾分析, 发现SA与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)具有一定的表面形态差异. 这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性, 有助于充分排除HP的可能性. 由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉, 内镜下易于活检钳除, 而SA具有较高的癌变潜能, 更应务求完全切除, 因此, 内镜下实时鉴别SA与HP, 具有重要的临床意义.

刘揆亮, 司空银河, 林香春, 吴静, 刘红. 高清晰结肠镜下锯齿状腺瘤的形态学特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4140-4145
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4140>

0 引言

腺瘤-腺癌序列是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发生的主要途径之一^[1], 近年研究发现锯齿状腺瘤(serrated adenoma, SA)是一种新的腺瘤类型, 其可能通过“增生性息肉-锯齿状腺瘤-腺癌”这一锯齿状通路发展为CRC^[2]. 结肠镜检查作为CRC及其癌前病变筛查的有效手段广泛应用于临床, 在降低结直肠癌的发病率方面具有重要作用. SA在结肠镜下形态特点不突出, 部分病变与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)鉴别困难^[3], 目前有关SA表面形态特点的研究较少. 本研究旨在对我院近年诊断的结直肠SA及HP

的内镜下形态学特点进行总结和比较, 探讨结肠镜白光及窄带成像内镜(narrow band imaging, NBI)模式下SA与HP的鉴别要点.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性收集2010-03/2013-06于首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科内镜室结肠镜检查诊断为结直肠SA的资料. 病理学诊断由1位有经验的消化病理医师完成, 采用Longacre等^[4]标准: 有一定程度的锯齿状腺体; 有未成熟的杯状细胞存在; 腺体有异型增生. 入选标准: (1)用奥林巴斯CF-H260高清晰结肠镜完成全结肠检查并发现病变; (2)完成白光及NBI模式下抵近观察并保存图像; (3)对所观察的病变进行活检或内镜下切除并进行病理学检查; (4)病理学诊断为SA. 排除标准: (1)肠道准备不佳, 影响观察; (2)内镜图像不清晰, 影响观察; (3)图像不能反映病变全貌; (4)病理学判定同时存在HP及SA成分.

1.2 方法 按上述标准共入选SA 50例, 根据病变大小以1:1比例随机匹配同期发现的HP 50例. 记录病变的部位、大小、形态(参照多田正大等^[5])等资料. 观察白光及NBI模式下入选病变图片, 参照工藤分型^[6]进行隐窝分型; 参照Kimura等^[7]报道判断Ⅱ型开大型隐窝(Ⅱ-open, Ⅱ-O)开口; 参照Hazewinkel等^[8]报道, 在白光及NBI模式下评价息肉是否具有以下形态特点: (1)息肉边缘模糊: 病变与周围正常黏膜界限不清楚; (2)息肉外形不规整: 病变外形非圆形, 呈非对称性; (3)息肉表面呈积云样结构: 表面不平, 柔和的结节、类似积云的结构; (4)息肉表面隐窝内可见点状血管: 在NBI模式下观察隐窝内是否有棕色的点状血管.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析. 正态分布数据采用mean±SD表示, 非正态分布数据采用中位数及范围表示, 计量资料的比较采用*t*检验或*u*检验, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 等级资料的比较采用*u*检验. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义. 形态特点对于SA与HP的鉴别价值采用敏感性、特异性、准确性及优势比(odds ratio, OR)描述.

2 结果

2.1 SA与HP的一般资料 纳入病变包括SA 50例(35例患者, 男23例, 女12例), HP 50例(42例患者, 男25例, 女17例), 病变位于盲肠6例、升结肠

■研究前沿

结肠镜检查作为CRC及其癌前病变筛查的有效手段广泛应用于临床, 在降低结肠癌的发病率方面具有重要作用, SA在结肠镜下形态学特点不突出, 部分病变的形态与增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)鉴别困难. 目前有关SA表面形态特点的研究较少.

■相关报道

Hazewinkel等最近对SSA/P的形态特征进行了系统总结. 他们发现放大内镜联合NBI下积云样外观、边界不清楚、外形不规则以及隐窝内点状血管是息肉组织学类型为SSA/P的预测因素, 其OR值分别为4.91(95%CI: 2.42-9.97)、2.38(95%CI: 1.44-4.96)、3.17(95%CI: 1.59-6.29)及2.05(95%CI: 1.02-4.11).

■创新盘点

本文紧跟国际研究报道,对高清非放大结肠镜白光及其NBI模式下SA的表面形态学特点及其与HP的鉴别要点进行总结,发现SA与HP在高清非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异。

表 1 SA与HP的一般资料

	SA	HP
大小(cm, 中位数与范围)	0.5(0.3-1.5)	0.5(0.3-1.5)
形态		
Is(n)	39 ^a	47
Isp(n)	0	2
Ip(n)	0	1
Ila(n)	6	0
LST(n)	5	0
部位		
右半结肠(n)	24	18
升结肠与盲肠(n)	11	9
横结肠(n)	13	9
左半结肠及直肠(n)	26	32
降结肠(n)	4	5
乙状结肠(n)	14	16
直肠(n)	9	11

^a $P<0.05$ vs HP. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉。

表 2 SA与HP的表面形态学特征比较

	SA(例)	HP(例)
隐窝开口		
I型	0 ^b	25
II型	28	24
II型开大型	22 ^b	1
边界不清楚	15 ^b	1
形态不规整	33 ^b	3
积云样结构	46 ^b	1
点状血管网	38 ^b	4

^b $P<0.01$ vs HP. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉。

14例、横结肠22例、降结肠9例、乙状结肠30例、直肠19例; SA中, 24例(48%)位于右半结肠(脾区以上); HP中, 18例(36%)位于右半结肠, 二者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。SA组大小为0.5 cm(0.3-1.5 cm), HP组大小为0.5 cm(0.3-1.5 cm), 两组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 SA与HP的大体形态比较 SA中, 呈Is型者39例, 呈IIa型者6例, 侧向发育型腺瘤(laterally spreading tumor, LST)型5例; HP中, 呈Is型者47例, 呈Isp型者2例, 呈Ip型者1例。SA呈Is型者少于HP($P<0.05$); 呈IIa及LST型者11例, 多于HP(0例, $P<0.05$)(表1)。

2.3 SA与HP的表面形态学特征比较

2.3.1 边界及形态: SA中15例边界与周围黏膜界限不清, HP中1例可见边界界限不清; SA中33例

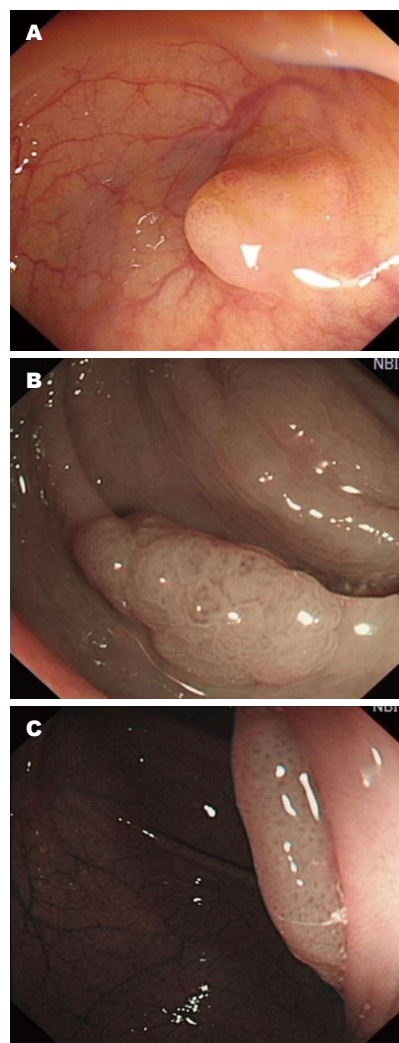


图 1 锯齿状腺瘤的内镜下表面形态学特点。A: 息肉外形不规整, 边缘模糊(白光下观察); B: 息肉表面呈积云样结构, 可见II型开大型隐窝(NBI下); C: 息肉隐窝表面可见点状血管(NBI下)。NBI: 窄带成像。

出现病变形态不规整, HP中3例呈形态不规整; 两组之间差异具有统计学意义($P<0.001$)(表2, 图1A)。

2.3.2 隐窝开口形态: 根据工藤分型对息肉的隐窝开口形态的分析结果显示, SA中, 隐窝形态呈II型者28例, 占56.0%; II-O型者22例占44.0%; HP中, 隐窝形态呈I型者25例, 占50.0%; II型者24例, 占48.0%; II-O型者1例, 占2.0%。SA呈I型隐窝者少于HP($P<0.001$), 呈II型隐窝者多于HP($P>0.05$), 呈II-O型者多于HP($P<0.001$)(表2, 图1B)。

2.3.3 表面积云样结构: 50例SA中, 46例表面呈积云样结构, 占92%; 50例HP中, 1例表面呈积云样结构, 占2%; 两组之间差异具有统计学意义($P<0.001$)(表2, 图1B)。

2.3.4 NBI模式下息肉表面血管网: 50例SA中, 38

表 3 表面形态学特征对SA的预测作用

	OR(95%CI)	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)
II-O型隐窝	38.5(4.9-301.2)	44(22/50)	98(49/50)	71(71/100)
边界不清楚	21.0(2.7-166.5)	30(15/50)	98(49/50)	64(64/100)
形态不规整	30.4(8.2-112.2)	66(33/50)	94(47/50)	80(80/100)
积云样结构	563.5(60.7-5229.7)	92(46/50)	98(49/50)	95(95/100)
点状血管	36.4(10.9-122.2)	76(38/50)	92(46/50)	84(84/100)
3种或3种以上特征	-	80(40/50)	100(50/50)	90(90/100)
不具备任一特征 ¹	-	84(42/50)	100(50/50)	92(92/100)

¹此处的敏感性、特异性及准确性是就预测HP而言. SA: 锯齿状腺瘤; HP: 增生性息肉.

例表面可见隐窝内点状血管, 占76%; 50例HP中, 4例表面可见隐窝内点状血管, 占8.0%; 两组之间差异具有统计学意义($P<0.001$)(表2, 图1C).

2.4 不同部位SA形态特点的比较 位于右半结肠与左半结肠及直肠的SA相比, 大小、形态分型、隐窝分型、息肉表面血管网、积云样结构、边界及形态特点均无明显差异($P>0.05$).

2.5 表面形态学特征对病理诊断的预测作用 I型隐窝预测HP的敏感性为50%, 特异性为100%, 准确性为75%. II-O型隐窝预测SA的OR为38.5(95%CI: 4.9-301.2), 敏感性为44%, 特异性为98%, 准确性为71%; 边界模糊预测SA的OR为21.0(95%CI: 2.7-166.5), 敏感性为30%, 特异性为98%, 准确性为64%; 形态不规整预测SA的OR为30.4(95%CI: 8.2-112.2), 敏感性为66%, 特异性为94%, 准确性为80%. 积云样结构预测SA的OR为563.5(95%CI: 60.7-5229.7), 敏感性为92%, 特异性为98%, 准确性为95%. 隐窝内点状血管预测SA的OR为36.4(95%CI: 10.9-122.2), 敏感性为76%, 特异性为92%, 准确性为84%. 除隐窝开口外的4种特点中, HP中2例同时具备2种特点(呈II型隐窝), 6例具有1种特点(1例呈II-O型隐窝); SA中1例同时具有4种特点(呈II型隐窝), 32例同时具有3种特点(13例呈II-O型隐窝); 16例同时具有2种特点(7例呈II-O型隐窝), 1例具有1种特点(呈II-O型隐窝). 总之, 将II-O型隐窝与其他4种形态特点一起考虑时, SA共40例同时具备3种或3种以上形态学特点, HP为0例; HP共42例不具备任何一种形态学特点, SA为0例. 因此, 同时具备3种或3种以上形态学特点用于预测SA的敏感性为80%, 特异性为100%, 准确性为90%; 不具备任何一种形态学特点用于预测HP的敏感性为84%, 特异性为100%, 准确性为92%(表3).

3 讨论

SA最早于1990年由Longacre等^[4]命名, 2000年WHO正式将其定义为继管状腺瘤、绒毛状腺瘤和混合型腺瘤之后的第四种腺瘤病理形态^[9]. 近年研究发现此前统称为SA的病变实际上具有一定程度的异质性, 位于右半结肠和左半结肠的SA在大小、形态、隐窝开口类型上均有区别^[10,11], 而右半结肠SA的恶性潜能高于左半结肠^[10], 并且与HP易于混淆^[12]. 因此, Torlakovic等^[12]提出对SA进行进一步区分. 2010年WHO分类^[13]确定锯齿状病变主要包括HP、无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma/polyp, SSA/P)及传统锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA)等, 依此分类, 过去统称为SA的病变将分别诊断为SSA/P与TSA^[14]. 随着放大内镜和NBI等技术的发展, 近年研究开始关注SA的内镜下表面形态特点. 有研究提出TSA较少, 常为有蒂病变, 色较红, 与SSA/P及HP有明显差异; 而SSA/P与HP大体形态上均表现为无蒂病变, 内镜下容易混淆^[15]. 因此SA与HP之间的鉴别可能主要是SSA/P与HP的鉴别, 因而本研究主要参考相关文献报道的SSA/P的表面形态学特点进行分析验证.

一些研究提出SSA/P的表面具有大量黏液, 形成“黏液帽”, 并因此表现为结节或颗粒样不平^[16]. Hazewinkel等^[8]最近对SSA/P的形态特征进行了系统总结. 他们归纳了放大内镜联合NBI下SSA/P较HP更为常见的6种特征, 然后在SSA/P、HP和腺瘤(各30例)中进行验证后发现放大内镜联合NBI下积云样外观、边界不清楚、外形不规则以及隐窝内点状血管是息肉组织学类型为SSA/P的预测因素, 其OR值分别为4.91(95%CI: 2.42-9.97)、2.38(95%CI: 1.44-4.96)、3.17(95%CI: 1.59-6.29)及2.05(95%CI: 1.02-4.11). 我们在本研究中通

■应用要点

本研究提示SA与HP在高清晰非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异, 而这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性, 有助于充分排除HP的可能性, 并提示我们选择更为彻底的处理方法.

■名词解释

锯齿状腺瘤：最早于1990年命名，2000年WHO正式将其定义为继发性腺瘤、绒毛状腺瘤和混合性腺瘤之后的第四种腺瘤病理形态。近年研究发现此前统称为SA的病变更实际上具有一定程度的异质性。2010年WHO分类确定锯齿状病变主要包括增生性息肉、无蒂锯齿状腺瘤及传统锯齿状腺瘤等。

过回顾既往所采集的内镜图片对该研究总结的以上形态特点进行了验证，证实上述形态特点在SA与HP间均存在显著差异。我们对这4种特点各自预测SA的价值进行了分析，显示其敏感性在30%-92%，以积云样结构最高；特异性在92%-98%，积云样结构、边界不清均较高。这些结果提示采用高清晰非放大结肠镜(奥林巴斯CF-H260)，借助NBI模式，可借助以上形态特点对SA及HP进行鉴别，见到积云样结构时尤其提示病变为SA。虽然其他几项特点敏感性较差，但特异性均较高，这提示内镜下一旦见到上述特点时应高度怀疑SA，并可基本排除HP的可能性。

Hazewinkel等^[8]认为隐窝分型对SSA/与HP没有鉴别作用，Boparai等^[7]指出隐窝的工藤分型用于鉴别SSA/P与HP的诊断准确性仅为55%。不过，Kimura等^[7]提出SSA/P具有独特的II-O型隐窝开口，其预测SSA/P的敏感性达65.5%，特异性达97.3%，Ishigooka等^[16]报道其敏感性为83.7%，特异性为85.7%。SSA/P的隐窝开口更大可能与SSA/P常产生大量黏液有关^[8]。不过，这两项研究均在放大内镜模式下观察隐窝开口。有研究证实高清晰非放大结肠镜的NBI模式下抵近观察可对隐窝形态做出准确判断^[18]，因此，我们在本研究中对无放大常规高清晰内镜下NBI模式图像的隐窝开口形态进行了分析，结果发现也可清楚地观察到II-O型的隐窝开口，并且SSA/P的隐窝形态均为II型或II-O型，而HP中则以I型开口多见。这提示NBI模式下观察隐窝形态，尤其是发现II-O型隐窝有助于SA与HP的鉴别。我们的结果显示II-O型隐窝预测SA的敏感性较低(44%)，但特异性较高(98%)，这一结果与Kimura等^[7]类似，也提示虽然SA隐窝开口未必为II-O型，但内镜下见到II-O型隐窝时高度提示病变为SA；反之，内镜下见到I型隐窝则高度提示病变为HP。另外，Hazewinkel等^[8]提出，在NBI下观察时，对于同时具有前述4种形态学特征(不含隐窝开口)或不具有任一形态特征的息肉进行分析，这些形态学特征诊断SSA/P的敏感性、特异性和准确性分别为89%、96%和93%。本组资料中，我们将前述4种特点与II-O型隐窝相结合，发现具备以上5种特点中3种或3种以上时，预测SA的敏感性达80%，特异性达100%；而不具备任一特征对预测HP的敏感性达84%，特异性也达100%。这一结果提示内镜下对上述形态特征进行综合分析高度有助于鉴别SA与HP。而不具备上述任何形态特征的病变应高度怀疑

为HP。

有研究发现，过去所认为的一部分存在癌变潜能的所谓HP实际上多数是SSA/P^[19]。Lu等^[20]随访了40例SSA/P和55例HP患者，CRC发生率分别为12.5%和1.8%，提示SSA/P可能为一种高危病变。由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉，内镜下易于活检钳除，而SA具有较高的癌变潜能，更应务求完全切除^[8]，因此，内镜下实时鉴别SA与HP具有重要的临床意义。本研究提示SA与HP在高清晰非放大内镜下的表面形态特点具有一定的差异，而这些特点用于SA与HP的鉴别时具有高度特异性，有助于充分排除HP的可能性，并提示我们选择更为彻底的处理方法。不过，本研究为回顾性研究，而本院病理科近年来尚沿用Longacre等^[4]的SA诊断标准，因此未进一步区分SSA/P和TSA，可能存在一定局限性。这些形态特点用于内镜下实时判断病变性质的作用还有待前瞻性研究的验证。

4 参考文献

- 1 Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988; 319: 525-532 [PMID: 2841597 DOI: 10.1056/NEJM198809013190901]
- 2 Mäkinen MJ, George SM, Jernvall P, Mäkelä J, Vihko P, Karttunen TJ. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma--prevalence, histological features, and prognosis. *J Pathol* 2001; 193: 286-294 [PMID: 11241406 DOI: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999::AID-PATH800>3.0.CO;2-2]
- 3 Jaramillo E, Watanabe M, Rubio C, Slezak P. Small colorectal serrated adenomas: endoscopic findings. *Endoscopy* 1997; 29: 1-3 [PMID: 9083728 DOI: 10.1055/s-2007-1004052]
- 4 Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 524-537 [PMID: 2186644 DOI: 10.1097/0000478-199006000-00003]
- 5 多田正大, 大川清孝, 三戸岡英树. 内镜诊断与鉴别诊断图谱: 下消化道. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 25
- 6 Kudo S, Tamura S, Nakajima T, Yamano H, Kusaka H, Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 8-14 [PMID: 8836710 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70222-5]
- 7 Kimura T, Yamamoto E, Yamano HO, Suzuki H, Kamimae S, Nojima M, Sawada T, Ashida M, Yoshikawa K, Takagi R, Kato R, Harada T, Suzuki R, Maruyama R, Kai M, Imai K, Shinomura Y, Sugai T, Toyota M. A novel pit pattern identifies the precursor of colorectal cancer derived from sessile serrated adenoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 460-469 [PMID: 22233696 DOI: 10.1038/ajg.2011.457]
- 8 Hazewinkel Y, López-Cerón M, East JE, Rastogi A, Pellisé M, Nakajima T, van Eeden S, Tytgat KM,

- Fockens P, Dekker E. Endoscopic features of sessile serrated adenomas: validation by international experts using high-resolution white-light endoscopy and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 916-924 [PMID: 23433877 DOI: 10.1016/j.gie.2012.12.018]
- 9 World Health Organization classification. Pathology and genetics of the digestive system. Lyon, France: IARC Press, 2000: 105-118
- 10 Oka S, Tanaka S, Hiyama T, Ito M, Kitadai Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Clinicopathologic and endoscopic features of colorectal serrated adenoma: differences between polypoid and superficial types. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 213-219 [PMID: 14745394 DOI: 10.1016/S0016-5107(03)02693-2]
- 11 Jaramillo E, Tamura S, Mitomi H. Endoscopic appearance of serrated adenomas in the colon. *Endoscopy* 2005; 37: 254-260 [PMID: 15731942 DOI: 10.1055/s-2005-861007]
- 12 Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 65-81 [PMID: 12502929 DOI: 10.1097/00000478-200301000-00008]
- 13 World Health Organization classification. Tumours of the digestive system. Lyon, France: IARC 2010: 160-165
- 14 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318157f002]
- 15 Yamada A, Notohara K, Aoyama I, Miyoshi M, Miyamoto S, Fujii S, Yamamoto H. Endoscopic features of sessile serrated adenoma and other serrated colorectal polyps. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 45-51 [PMID: 21510285]
- 16 Ishigooka S, Nomoto M, Obinata N, Oishi Y, Sato Y, Nakatsu S, Suzuki M, Ikeda Y, Maehata T, Kimura T, Watanabe Y, Nakajima T, Yamano HO, Yasuda H, Itoh F. Evaluation of magnifying colonoscopy in the diagnosis of serrated polyps. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4308-4316 [PMID: 22969193 DOI: 10.3748/wjg.v18.i32.4308]
- 17 Boparai KS, van den Broek FJ, van Eeden S, Fockens P, Dekker E. Hyperplastic polyposis syndrome: a pilot study for the differentiation of polyps by using high-resolution endoscopy, autofluorescence imaging, and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 947-955 [PMID: 19595313 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1172]
- 18 刘红, 吴静, 林香春, 高炳霞, 魏南, 姜国俊, 王沧海. 普通窄带成像内镜对结直肠增生性息肉和腺瘤的鉴别诊断价值. *中华消化杂志* 2011; 31: 798-802
- 19 Goldstein NS, Bhanot P, Odish E, Hunter S. Hyperplastic-like colon polyps that preceded microsatellite-unstable adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 778-796 [PMID: 12817424 DOI: 10.1309/DRFQ0WFUF1G13CTK]
- 20 Lu FI, van Niekerk de W, Owen D, Tha SP, Turbin DA, Webber DL. Longitudinal outcome study of sessile serrated adenomas of the colorectum: an increased risk for subsequent right-sided colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 927-934 [PMID: 20551824 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181e4f256]

同行评价

本文探讨了高清内镜白光及NBI模式下SA的形态特点及其与HP的鉴别要点,表明SA具有一定的表面形态特点,高清非放大内镜下对病变表面形态特征的观察有助于SA与HP的鉴别。由于部分SA可表现为与HP相似的较小息肉,内镜下易于活检钳除,而SA具有较高的癌变潜能,更应追求完全切除。内容客观全面,观点新颖,具有一定的科学意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白

韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶

■背景资料

目前诊断胃癌主要依靠对症状、患者行胃镜及手术病理活检等方法, 但因其为有创检查, 不能对胃癌高危人群进行筛查。其他辅助诊断如血液生化及影像学等检查由于准确性等原因, 不能如实反映胃癌实际情况。临床上迫切需要找到特异性及敏感性更高的胃癌诊断指标。

韦春回, 赖铭裕, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

莫喜晶, 广西中医药大学第一附属医院仁爱分院 广西壮族自治区南宁市 530001

韦春回, 硕士, 住院医师, 主要从事胃癌发病机制方面的研究。

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1140003A-13

作者贡献分布: 韦春回与赖铭裕对此文所作贡献均等; 此课题由赖铭裕与韦春回设计; 研究过程由韦春回、赖铭裕与莫喜晶操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赖铭裕提供; 数据分析由韦春回与莫喜晶完成; 本论文撰写由韦春回完成。

通讯作者: 赖铭裕, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科。laimingyu2005103@yahoo.com.cn

电话: 0771-5356620

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS

Chun-Hui Wei, Ming-Yu Lai, Xi-Jing Mo

Chun-Hui Wei, Ming-Yu Lai, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xi-Jing Mo, Kindheartedness Branch of the First Affiliated Hospital of Guangxi Chinese Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technical Development Program of Guangxi, No. gkg1140003A-13

Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Chief Physician, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo.com.cn

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-23

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To screen serum differentially expressed proteins in gastric cancer (GC) patients and search biomarkers for GC diagnosis.

METHODS: Forty-five serum samples from GC patients and 45 from normal controls were collected. High-abundance proteins in serum were

removed by immune-chromatography assay. Isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) coupled with two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry (2D-LC-MS/MS) were used to analyze and identify differentially expressed serum proteins between the two groups. Bioinformatics was used to analyze the identified differentially expressed proteins, and the expression of representative differential proteins was verified by Western blot.

RESULTS: The iTRAQ coupled with 2D-LC-MS/MS analysis led to the identification of a total of 199 proteins, of which 17 were differentially expressed proteins between the two groups, including 12 up-regulated ones and 5 down-regulated ones in GC patients. These differentially expressed proteins are involved in 10 biological processes, 9 molecular functions and 2 cellular components. Western blot results showed that compared with the normal control controls, the expression of representative differential protein ITIH4 in serum of GC patients was significantly up-regulated (1.7517 ± 0.247 vs 1 ± 0 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: ITIH4 may be used as a new potential biomarker for diagnosis of GC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; iTRAQ; Western blot; Biomarker; ITIH4

Wei CH, Lai MY, Mo XJ. Screening differentially expressed serum proteins in gastric cancer by iTRAQ labeling coupled with 2D-LC-MS/MS. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4146-4152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4146>

摘要

目的: 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 寻找胃癌血清标志物。

■同行评议者

高泽立, 副教授, 上海交大医学院九院周浦分院

方法: 采集胃癌患者血清和正常对照人群血清各45例, 所有血清样本去除高丰度血清蛋白质后, 采用相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)技术联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)分析和鉴定两组间的差异表达蛋白; 采用生物信息学对差异蛋白进行分析; 用Western blot对蛋白组中的代表性血清差异表达蛋白进行表达验证。

结果: iTRAQ标记联合2D-LC-MS/MS分析一共鉴定出10540条独特肽段, 对应199个非冗余蛋白, 其中符合条件的差异蛋白17个, 其中12个蛋白在胃癌患者中表达上调, 5个蛋白在胃癌患者中表达下调。17种差异表达蛋白参与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分, 涉及的5个生物代谢途径。Western blot结果显示, 与正常对照人群相比, 代表性差异表达蛋白ITI4在胃癌患者血清中表达量上调, 差异具有统计学意义(1.7517 ± 0.247 vs 1 ± 0 , $P < 0.05$)。

结论: ITI4可能是诊断胃癌新的潜在生物标志物。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; iTRAQ; Western blot; 标志物; ITI4

核心提示: 胃癌(gastric cancer, GC)是严重危害人类健康的常见病和多发病, 可见早期诊断的意义尤为重要。本研究通过iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选GC血清差异表达蛋白并通过Western blot验证, 初步筛选得到ITI4为GC差异表达蛋白, ITI4可能是诊断GC的潜在生物标志物。表明该技术用于GC生物标志物的血清蛋白质组学研究具有良好的前景。

韦春回, 赖铭裕, 莫喜晶. 基于iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4146-4152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4146>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4146>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是人类常见的恶性肿瘤之一, 居全球肿瘤发病率的第4位和肿瘤死亡率的第2位^[1], 在中国, 其发病率和死亡率分别为第2和第3位^[2]。虽然近年来对胃癌的治疗取得了进展, 其方法有手术、放化疗等, 但多数患者

出现临床症状时已处于中晚期并出现转移, 生存率低, 有研究显示^[3,4], 如果胃癌在早期就被诊断, 患者的5年生存率可达约90%, 相反, 胃癌中晚期患者的5年生存率不足10%。因此早期发现并治疗是提高胃癌疗效的关键因素。近年来已发现一些潜在标志物用于临床诊断肿瘤, 但CEA、CA-199、CA72-4等用于诊断胃癌的特异性和敏感性不高, 研究显示他们的敏感性仅为18%-57%^[5]。因此目前诊断胃癌主要依靠对有症状患者行影像学、胃镜及手术病理活检等方法, 尚缺乏特异性标志物对胃癌高危人群进行筛查。

蛋白质组学(proteomics)是以全部蛋白质为对象, 研究其组成及变化规律, 以了解机体生理病理过程的科学^[6]。目前用于研究肿瘤的蛋白质组学, 采用蛋白质组学技术为手段, 揭示肿瘤发生的可能分子机制, 筛选出能用于临床的肿瘤生物标志物及肿瘤生物治疗的靶标。随着蛋白质组学技术的迅速发展, 已有可能同时筛选和疾病发生机制、临床诊断、治疗及预后相关的差异表达蛋白^[7]。相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)技术是美国ABI公司于2004年研发的一种新的多肽体外同位素标记相对和绝对定量技术^[8]。iTRAQ试剂由平衡基团、报告基团及肽段反应基团等三部分构成。iTRAQ试剂由等量异位标签构成, 他们的分子均量为145 kDa, 其中报告基团的质量为114、115、116、117、118、119、120和121 kDa。自有学者^[9]于2004年首次应用iTRAQ标记技术筛选及鉴定野生型酵母菌株及其同源突变株差异表达蛋白, 其结果显示iTRAQ标记对蛋白质定量分析有较高的覆盖率后, 该技术在生命科学领域特别是肿瘤研究方面已得到广泛应用, 如在肺癌^[10]、肝癌^[11]、口腔癌^[12]、卵巢癌^[13]、子宫癌^[14]、结肠癌^[15]等的研究中均有采用iTRAQ标记技术筛选肿瘤标志物和治疗靶标方面的报道, 但用于筛选胃癌血清差异表达蛋白的研究报道较少。

本研究采用iTRAQ标记联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)技术对胃癌患者和正常人群血清进行蛋白谱表达研究, 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 采用生物信息学对血清差异蛋白进行分析, 并对差异蛋白进行表达验证, 旨在寻找与胃癌相关的新的潜在生物标志物。

■ 研发前沿

相对和绝对定量同位素标志(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)联合二维液相色谱-串联质谱(two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2D-LC-MS/MS)技术是近年来最新开发的一种定量蛋白质组学技术, 用于检测样品中低丰度蛋白, 有灵敏度高、蛋白覆盖率高、重复性好等优势。通过iTRAQ技术可能为无创诊断胃癌提供更多有价值的标志物。

■相关报道

Hendrick等采用iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术研究胃癌AGS和MKN7细胞株及正常胃黏膜上皮细胞蛋白时,发现43个差异表达蛋白,其中颗粒蛋白GRN在胃癌细胞株中高表达。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-02/2012-02广西医科大学第一附属医院就诊的胃癌患者血清45例,入选标准为:(1)经手术或胃镜活检病理确诊为胃癌患者;(2)在本实验抽取血液前均未接受包括治疗性手术、化放疗以及其他任何相关治疗;(3)排除肝肾等其他脏器肿瘤以及急慢性感染性疾病。最终符合条件的男27例,女18例;年龄52-70岁,平均年龄59岁 \pm 10.53岁;按胃癌第七版TNM分期,Ⅰ期12例,Ⅱ期18例,Ⅲ期15例;45例均为低分化腺癌;20例无淋巴结转移,25例已有淋巴结转移。正常对照人群来自同时期广西医科大学第一附属医院的健康体检者血清45例,入选标准为:(1)近半年内曾行胃镜检查,报告显示无明显异常;(2)无胃胀胃痛、反酸、嗝气等不适主诉;(3)经血常规、尿常规、肝肾功能、肿瘤生物标志物、心电图及腹部B超等检查排除肝肾等其他脏器疾病以及急慢性感染性疾病。最终符合条件的男26例,女19例;年龄41-59岁,平均年龄47.53岁 \pm 5.69岁;所有受试者均知情同意,实验经过获得医院伦理委员会审批。多重亲和MARS human 14色谱柱购自Agilent公司;iTRAQ试剂盒、QSTAR XL质谱仪、Protein Pilot 4.2软件均购自美国应用生物系统公司;乙腈(ACN)、氯化钾、丙酮、甲酸等购自荷兰Valkenswaard公司;一抗:山羊抗人ITIH4,购自美国Santa Cruz公司、二抗:辣根酶标记兔抗山羊IgG,购自北京中杉金桥生物技术有限公司、PVDF膜,购自美国Milipore公司、液相色谱仪RPCL(岛津20AD),购自日本岛津公司;强离子交换柱,2.1 mm \times 100 mm, 5 μ m, 300Å,购自美国Nest Group, Inc.公司;反相离子交换柱,ZORBAX 300SB-C18 column(5 μ m, 300Å, 0.1 mm \times 150mm)购自美国Microm公司;ECL化学发光底物系统,购自上海碧云天生物技术有限公司;垂直电泳槽,购自美国Bio-Rad公司;凝胶成像仪,购自上海梅特勒-托利多公司。

1.2 方法

1.2.1 样本采集与制备:抽取4 mL空腹静脉血,置于采用血清分离管(serum separation tubes, SST)中,冰上凝结30 min后,4 $^{\circ}$ C离心10 min(2000 r/min),取上清液,以200 μ L分装入1.5 mL EP管中,编号后保存于-80 $^{\circ}$ C超低温冰箱以备用。

1.2.2 去除高丰度蛋白:按照多重亲和去除系统human14色谱柱操作说明,去除高丰度蛋白,收集到的馏分用冻干机浓缩。

1.2.3 脱盐和蛋白含量检测:用3000 MWCO超滤离心管,加入50 mmol/L pH 8.5三乙胺碳酸氢缓冲液,反复3次,脱盐和收集蛋白片段;通过bradford法进行蛋白定量,每组低丰度蛋白取100 μ g/管,冻干。

1.2.4 iTRAQ标记:取各组样品各100 μ g加入还原试剂,60 $^{\circ}$ C反应1 h,加入半胱氨酸封闭试剂室温下放置10 min。加入胰蛋白酶,37 $^{\circ}$ C酶解过夜,离心使样品沉至管底。各管iTRAQ标记试剂分别加入各管样品中,室温下反应1 h。加入三倍体积超纯水,使标记试剂分解,标记和样品对应关系为:iTRAQ 116:胃癌组,iTRAQ 118:正常对照组。将iTRAQ标记好的各组样品混合至低吸附管,真空离心蒸干,-80 $^{\circ}$ C储存备用。

1.2.5 2D-LC-MS/MS:不同标记的iTRAQ标记蛋白样品混合,经第一维强阳离子柱(SCX)分离,共收取20个馏分进行第二维分析;第二维反相色谱-质谱联用(RPLC-MS),色谱分离90 min后行质谱鉴定,MS扫描范围m/z 400-1800,MS/MS扫描范围m/z 100-2000。

1.2.6 质谱数据分析:采用Protein Pilot 4.2软件检索质谱分析所得数据,设置蛋白鉴定置信度为95%,即Prot Score>1.3,且至少有一个肽段和库中的肽段95%以上相匹配。同时进行蛋白反库搜索,设置假阳性率(FDR)<5%,Ratio>1.6或Ratio<0.625即认为该蛋白存在表达差异。

1.2.7 生物信息学分析:采用Uniprot数据库中的注释信息分析iTRAQ筛选出来的血清差异表达蛋白,进行GO分析,用Reactome数据库中的生物代谢途径数据分析血清差异蛋白涉及生物代谢途径。STRING9.0数据库构建参胃癌血清差异表达蛋白相互作用网络图。

1.2.8 Western blot验证ITIH4蛋白的表达:将20 μ L血清样品加入1 \times 还原型上样缓冲液混匀,变性,将样品加入凝胶孔道中进行电泳,100 mA稳流状态下转膜,将蛋白转至PVDF膜,用5%脱脂牛奶封闭,再把膜置于一抗(1:500)稀释液中摇床冰上孵育过夜,次日用TBST洗膜后置于二抗(1:10000)稀释液中室温孵育1 h,洗膜,显影,定影,经凝胶分析软件分析其灰度值,计算ITIH4蛋白在各组表达条带的灰度值,两者灰度值的比值反映各组蛋白的表达。

统计学处理 应用SPSS16.0软件进行统计学分析。计量资料以mean \pm SD表示,两样本均数间的比较采用t检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 胃癌组与正常对照组血清差异表达蛋白筛选结果

蛋白名称	116:118	生物学过程	分子作用	细胞组分
补体C4-B	1.94089	补体激活	肽链内切酶抑制	细胞外区
载脂蛋白B	1.6904	脂质代谢过程	脂质转运	细胞外区
纤连蛋白	0.4285	细胞黏附	蛋白结合	细胞外区
抗凝血酶III	2.8576	血液凝固	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
载脂蛋白A1	1.8197	脂质代谢过程	脂质转运	细胞外区
α 胰蛋白酶抑制剂重链H1	0.4447	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α 胰蛋白酶抑制剂重链H2	0.4699	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α 胰蛋白酶抑制剂重链H3	3.0479	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α 胰蛋白酶抑制剂重链H4	2.5822	肽酶活性的负调控	丝氨酸型肽链内切酶抑制剂	细胞外区
α 抗胰蛋白酶	3.1915	血液凝固	蛋白结合	细胞外区
补体C6	1.6596	免疫反应	蛋白结合	细胞外区
纤胶凝蛋白2	0.4285	补体激活	钙依赖蛋白结合	细胞外区
脂多糖结合蛋白	1.8879	非特异性免疫反应	蛋白结合	细胞外区
血清淀粉样蛋白A	17.2187	急性期反应	g蛋白耦合受体结合	细胞外区
角蛋白, II型细胞骨架1	0.0787	补体激活	受体激活	中间纤维
C反应蛋白	5.8076	炎症反应	蛋白结合	细胞外区
血浆铜蓝蛋白	3.4040	离子转运	铁氧化酶	细胞外区

■创新盘点

本研究运用血清蛋白质组学技术对胃癌患者和正常人群血清进行蛋白谱表达研究, 筛选胃癌血清差异表达蛋白, 采用生物信息学对血清差异蛋白进行分析, 并对差异蛋白进行表达验证, 发现ITI4可以作为胃癌血清候选标志物。

2 结果

2.1 质谱鉴定结果 依据设定的ProteinPilot4.2软件搜库条件要求, 共检测到10540个条独特肽段, 199个非冗余蛋白质。按Ratio>1.6(上调的差异蛋白)或者Ratio<0.625(下调的差异蛋白)的标准进一步筛选所鉴定的蛋白。胃癌组与正常对照组血清差异表达蛋白筛选, 共筛选出17个差异蛋白, 其中补体C4-B(C4B)、载脂蛋白B-100(APOB)、抗凝血酶III(SERPINC1)、 α 胰蛋白酶抑制剂重链H4(ITIH4)、 α -1-抗胰蛋白酶(SERPINA1)等12个蛋白在胃癌患者中表达上调, 纤连蛋白(FN1)、 α 胰蛋白酶抑制剂重链H1(ITIH1)、 α 胰蛋白酶抑制剂重链H2(ITIH2)、角蛋白, II型细胞骨架1(KRT1)和纤胶凝蛋白2(FCN2), 共5个蛋白在胃癌患者中表达下调(表1), 其中代表性差异蛋白ITI4的肽段相对定量信息(图1)。

2.2 生物信息学分析 通过Uniprot数据库中的注释信息对本实验获得的17种差异表达蛋白进行GO分析, 这些蛋白主要参与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分(表1)。使用Reactome数据库中的生物代谢途径数据分析血清差异蛋白涉及的5个生物代谢途径: 免疫系统代谢途径、止血代谢途径、脂质与脂蛋白代谢途径、信号转导代谢途径以及跨膜转运小分子代谢途径。蛋白质相互作用网络图可见大部分差异蛋白存在相互作用(图2)。

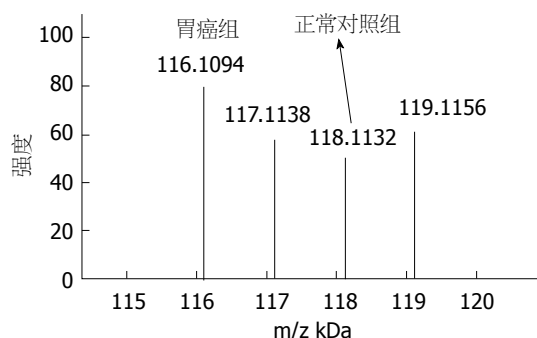


图 1 来自ITI4的匹配肽段NPLVWVHA的串联图谱及iTRAQ定量信息。

2.3 Western blot 经条带灰度分析, 与正常对照组相比, 胃癌组ITI4蛋白条带明显增强, 蛋白表达量上调, 差异具有统计学意义(1.7517 ± 0.247 vs 1 ± 0 , $P < 0.05$)(图3), 蛋白表达趋势与质谱鉴定结果一致。

3 讨论

iTRAQ标记技术是近年来新开发的定量蛋白质组学研究方法, 对差异蛋白有良好的定量鉴定效果, 且操作重复性高, 可同时对四种或八种复杂样品、细胞裂解液、细胞器、组织及血清等不同样品进行相对和绝对定量分析, 可标记样本中所用的蛋白质且其报告离子的分子量小(113-121 kDa), 既提高了蛋白的覆盖率也提高了质谱检测的灵敏度, 适合用于筛选和鉴定生物标志物。近年来已有学者采用iTRAQ技术

■应用要点

深入研究胃癌的候选血清标志物在胃癌发生发展过程的作用, 将为胃癌的无创诊断提供新的思路。

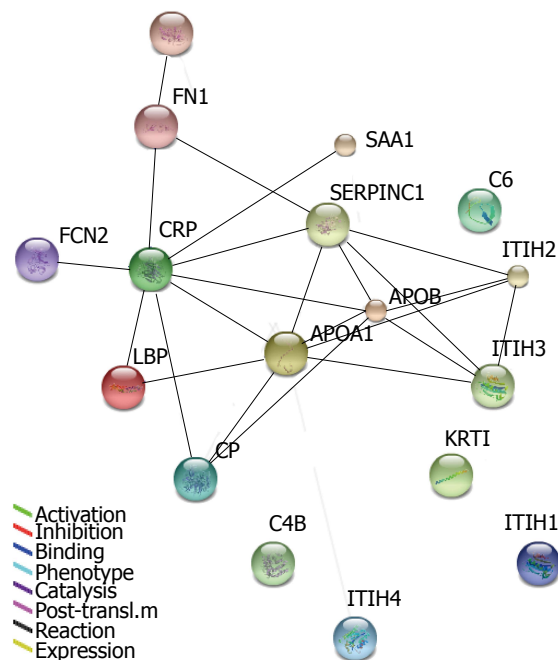


图 2 胃癌血清差异表达蛋白相互作用网络图。

筛选出一些肿瘤生物标志物, 如筛选出真核翻译延长因子1A1(eEF1A1)、溶酶体相关膜蛋白1(LAMP-1)及前梯度同源蛋白2(AGR2), 分别可作为前列腺癌^[16]、卵巢癌^[17]及肺腺癌^[10]的生物标志物, 也有iTRAQ标记技术用于胃癌差异蛋白的研究, 而其中对于胃癌细胞的研究占大多数。例如, 有学者^[18]采用iTRAQ联合2D-LC-MALDI-TOF/TOF MS技术对胃癌细胞株进行研究认为钙结合蛋白(caldesmon)可作为一个潜在胃癌转移相关蛋白; Loei等^[19]iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术检测胃癌细胞株蛋白谱, 共鉴定出47中差异表达蛋白; Yang等^[20]采用iTRAQ联合串联质谱技术对胃癌细胞株进行研究发现组织蛋白酶s(cathepsin s)在胃癌细胞转移和浸润方面发挥重要作用; Deng等^[21]采用iTRAQ联合ESI-Q-TOF-MS技术发现可溶抗药性相关钙结合蛋白(sorcina)在胃癌细胞中表达上调。而血液样品采集方便, 对受试者损伤小, 较易接受, 且由于机体代谢时, 血液作为载体为组织及器官供输营养物质并带走代谢产物, 可较真实的反应机体的生理病理状态。因此, 对血液标本的研究在探索肿瘤发病机制及寻找肿瘤生物标志物等方面存在巨大潜能。

本研究采用iTRAQ标记联合2D-LC-MS/MS技术筛选出胃癌患者和正常人群血清中的17种差异表达蛋白, 其中12种蛋白表达上调, 5种蛋白表达下调, 采用GO分析显示这些蛋白主要参

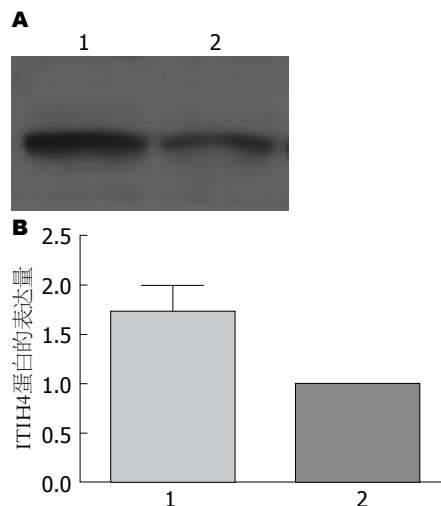


图 3 不同人群血清中 ITIH4 蛋白的表达。A: Western blot 检测结果; B: 蛋白相对表达直方图。1: 胃癌患者; 2: 正常对照人群。

与10种生物学过程、9种分子作用和2种细胞组分; 生物代谢途径数据分析显示涉及5个生物代谢途径: 免疫系统代谢途径、止血代谢途径、脂质与脂蛋白代谢途径、信号转导代谢途径以及跨膜转运小分子代谢途径, 提示胃癌的发生发展可能与上述5种代谢途径密切相关; 蛋白质相互作用网络图显示大部分表达蛋白存在相互联系; Western blot验证代表性差异蛋白ITIH4的表达, 结果显示, 其蛋白表达趋势与质谱鉴定结果一致。

ITIH4又称血浆激肽释放酶敏感糖蛋白, 是新发现的间 α 胰蛋白酶抑制剂重链家族成员, 其相对分子量为120 kDa^[22,23], 和其他家族成员(ITIH1-3, ITIH5-7)不同, ITIH4以重链亚型的形式存在血液中^[24], 易被血浆激肽释放酶系统裂解为25和85 kDa的片段, 后者可进一步裂解为57和28 kDa的片段^[25], 而至今尚未有检测到28 kDa的片段的研究报道, 提示其可能裂解为无法检测到的更小片段。

目前, ITIH4蛋白的确切作用仍然不清楚, Piñeiro等^[26]认为ITIH4是一个急性期反应蛋白, 在手术后患者的血清样本中明显升高。报道显示ITIH4与急性反应期发展中的细胞增殖和迁移有关, 在感染和炎症发展过程中发挥重要作用^[27]。Saroja等^[25]研究结果显示ITIH4蛋白在类风湿性关节炎患者血浆中表达升高。也有研究结果证实ITIH4蛋白在路易体痴呆患者脑脊液中表达升高^[28]。大量研究显示, ITIH4还和肿瘤有密切关系。Song等^[29]采用MALDI-TOF-MS技

术发现ITI4片段在乳腺癌患者和前列腺癌患者血清中表达上调, 对ITI4完整蛋白和肿瘤关系的研究也有报道, 有学者^[30]采用iTRAQ联合2D-LC-MS/MS技术对乳腺癌患者血清进行检测, 发现ITI4表达升高。目前, 研究ITI4和胃癌的关系报道较少, Hamm等^[23]采用RT-PCR技术检测ITI4 mRNA在胃部肿瘤组织表达的研究显示ITI4在63%的胃部肿瘤组织中表达下调, 在其余的胃癌组织中表达上调。而本研究应用Western blot分析胃癌患者血清发现ITI4蛋白表达比正常对照人群升高, 提示ITI4和胃癌的发生发展有着密切关系, 其结果与蛋白质组鉴定结果一致, ITI4可能是诊断胃癌的潜在生物标志物。

总之, 本研究通过iTRAQ结合2D-LC-MS/MS筛选胃癌血清差异表达蛋白并通过Western blot验证, 初步筛选得到ITI4为胃癌差异表达蛋白, 表明该技术用于胃癌生物标志物的血清蛋白质组学研究具有良好的前景。但这些蛋白在胃癌发生、发展中的作用尚未完全清楚, 需要进一步评价该血清差异蛋白作为诊断胃癌的候选标志物的可靠性。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 陈万青, 张思雄, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
- Ohta H, Noguchi Y, Takagi K, Nishi M, Kajitani T, Kato Y. Early gastric carcinoma with special reference to macroscopic classification. *Cancer* 1987; 60: 1099-1106 [PMID: 3607727]
- Peddanna N, Holt S, Verma RS. Genetics of gastric cancer. *Anticancer Res* 1995; 15: 2055-2064 [PMID: 8572602]
- Ebert MP, Röcken C. Molecular screening of gastric cancer by proteome analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 847-853 [PMID: 16825900]
- Blackstock WP, Weir MP. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends Biotechnol* 1999; 17: 121-127 [PMID: 10189717]
- Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature* 2003; 422: 198-207 [PMID: 12634793 DOI: 10.1038/nature01511]
- Ross PL, Huang YN, Marchese JN, Williamson B, Parker K, Hattan S, Khainovski N, Pillai S, Dey S, Daniels S, Purkayastha S, Juhasz P, Martin S, Bartlett-Jones M, He F, Jacobson A, Pappin DJ. Multiplexed protein quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* using amine-reactive isobaric tagging reagents. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 1154-1169 [PMID: 15385600 DOI: 10.1074/mcp.M400129-MCP200]
- Wu WW, Wang G, Baek SJ, Shen RF. Comparative study of three proteomic quantitative methods, DIGE, iCAT, and iTRAQ, using 2D gel- or LC-MALDI TOF/TOF. *J Proteome Res* 2006; 5: 651-658 [PMID: 16512681 DOI: 10.1021/pr050405o]
- Chung K, Nishiyama N, Wanibuchi H, Yamano S, Hanada S, Wei M, Suehiro S, Kakehashi A. AGR2 as a potential biomarker of human lung adenocarcinoma. *Osaka City Med J* 2012; 58: 13-24 [PMID: 23094510]
- Wang C, Jiang K, Kang X, Gao D, Sun C, Li Y, Sun L, Zhang S, Liu X, Wu W, Yang P, Guo K, Liu Y. Tumor-derived secretory clusterin induces epithelial-mesenchymal transition and facilitates hepatocellular carcinoma metastasis. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2308-2320 [PMID: 23010347 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.09.012]
- Lo WY, Wang HJ, Chiu CW, Chen SF. miR-27b-regulated TCTP as a novel plasma biomarker for oral cancer: from quantitative proteomics to post-transcriptional study. *J Proteomics* 2012; 77: 154-166 [PMID: 22902387 DOI: 10.1016/j.jprot.2012.07.039]
- Shetty V, Hafner J, Shah P, Nickens Z, Philip R. Investigation of ovarian cancer associated sialylation changes in N-linked glycopeptides by quantitative proteomics. *Clin Proteomics* 2012; 9: 10 [PMID: 22856521 DOI: 10.1186/1559-0275-9-10]
- Yokoyama T, Enomoto T, Serada S, Morimoto A, Matsuzaki S, Ueda Y, Yoshino K, Fujita M, Kyo S, Iwahori K, Fujimoto M, Kimura T, Naka T. Plasma membrane proteomics identifies bone marrow stromal antigen 2 as a potential therapeutic target in endometrial cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 472-484 [PMID: 22729361 DOI: 10.1002/ijc.27679]
- Hammoudi A, Song F, Reed KR, Jenkins RE, Meniel VS, Watson AJ, Pritchard DM, Clarke AR, Jenkins JR. Proteomic profiling of a mouse model of acute intestinal Apc deletion leads to identification of potential novel biomarkers of human colorectal cancer (CRC). *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440: 364-370 [PMID: 23998936 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.076]
- Rehman I, Evans CA, Glen A, Cross SS, Eaton CL, Down J, Pesce G, Phillips JT, Yen OS, Thalmann GN, Wright PC, Hamdy FC. iTRAQ identification of candidate serum biomarkers associated with metastatic progression of human prostate cancer. *PLoS One* 2012; 7: e30885 [PMID: 22355332 DOI: 10.1371/journal.pone.0030885]
- Marzinke MA, Choi CH, Chen L, Shih IeM, Chan DW, Zhang H. Proteomic analysis of temporally stimulated ovarian cancer cells for biomarker discovery. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 356-368 [PMID: 23172893 DOI: 10.1074/mcp.M112.019521]
- Hou Q, Tan HT, Lim KH, Lim TK, Khoo A, Tan IB, Yeoh KG, Chung MC. Identification and functional validation of caldesmon as a potential gastric cancer metastasis-associated protein. *J Proteome Res* 2013; 12: 980-990 [PMID: 23265641 DOI: 10.1021/pr3010259]
- Loei H, Tan HT, Lim TK, Lim KH, So JB, Yeoh KG, Chung MC. Mining the gastric cancer secretome: identification of GRN as a potential diagnostic marker for early gastric cancer. *J Proteome Res* 2012; 11: 1759-1772 [PMID: 22204653 DOI: 10.1021/pr201014h]
- Yang Y, Lim SK, Choong LY, Lee H, Chen Y, Chong PK, Ashktorab H, Wang TT, Salto-Tellez M, Yeoh

同行评价

本文紧扣当前胃癌防治研究热点, 对研究对象的选择较科学, 结果有可比性, 对胃癌临床研究提供一定理论依据。

- KG, Lim YP. Cathepsin S mediates gastric cancer cell migration and invasion via a putative network of metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2010; 9: 4767-4778 [PMID: 20812763 DOI: 10.1021/pr100492x]
- 21 Deng L, Su T, Leng A, Zhang X, Xu M, Yan L, Gu H, Zhang G. Upregulation of soluble resistance-related calcium-binding protein (sorcini) in gastric cancer. *Med Oncol* 2010; 27: 1102-1108 [PMID: 19885748 DOI: 10.1007/s12032-009-9342-5]
- 22 Cai T, Yu P, Monga SP, Mishra B, Mishra L. Identification of mouse itih-4 encoding a glycoprotein with two EF-hand motifs from early embryonic liver. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1398: 32-37 [PMID: 9602042]
- 23 Hamm A, Veeck J, Bektas N, Wild PJ, Hartmann A, Heindrichs U, Kristiansen G, Werbowetski-Ogilvie T, Del Maestro R, Knuechel R, Dahl E. Frequent expression loss of Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain (ITIH) genes in multiple human solid tumors: a systematic expression analysis. *BMC Cancer* 2008; 8: 25 [PMID: 18226209 DOI: 10.1186/1471-2407-8-25]
- 24 Zhuo L, Kimata K. Structure and function of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chains. *Connect Tissue Res* 2008; 49: 311-320 [PMID: 18991084 DOI: 10.1080/03008200802325458]
- 25 Saroha A, Kumar S, Chatterjee BP, Das HR. Jacalin bound plasma O-glycoproteome and reduced sialylation of alpha 2-HS glycoprotein (A2HSG) in rheumatoid arthritis patients. *PLoS One* 2012; 7: e46374 [PMID: 23056292 DOI: 10.1371/journal.pone.0046374]
- 26 Piñeiro M, Andrés M, Iturralde M, Carmona S, Hirvonen J, Pyörälä S, Heegaard PM, Tjørnehøj K, Lampreave F, Piñeiro A, Alava MA. ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect Immun* 2004; 72: 3777-3782 [PMID: 15213118 DOI: 10.1128/iai.72.7.3777-3782.2004]
- 27 Yang MH, Yang YH, Lu CY, Jong SB, Chen LJ, Lin YF, Wu SJ, Chu PY, Chung TW, Tyan YC. Activity-dependent neuroprotector homeobox protein: A candidate protein identified in serum as diagnostic biomarker for Alzheimer's disease. *J Proteomics* 2012; 75: 3617-3629 [PMID: 22554909 DOI: 10.1016/j.jprot.2012.04.017]
- 28 Dieks JK, Gawinecka J, Asif AR, Varges D, Gmitterova K, Streich JH, Dihazi H, Heinemann U, Zerr I. Low-abundant cerebrospinal fluid proteome alterations in dementia with Lewy bodies. *J Alzheimers Dis* 2013; 34: 387-397 [PMID: 23254635 DOI: 10.3233/jad-121810]
- 29 Song J, Patel M, Rosenzweig CN, Chan-Li Y, Sokoll LJ, Fung ET, Choi-Miura NH, Goggins M, Chan DW, Zhang Z. Quantification of fragments of human serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 by a surface-enhanced laser desorption/ionization-based immunoassay. *Clin Chem* 2006; 52: 1045-1053 [PMID: 16574760 DOI: 10.1373/clinchem.2005.065722]
- 30 Opstal-van Winden AW, Krop EJ, Kåredal MH, Gast MC, Lindh CH, Jeppsson MC, Jönsson BA, Grobbee DE, Peeters PH, Beijnen JH, van Gils CH, Vermeulen RC. Searching for early breast cancer biomarkers by serum protein profiling of pre-diagnostic serum; a nested case-control study. *BMC Cancer* 2011; 11: 381 [PMID: 21871081 DOI: 10.1186/1471-2407-11-381]

编辑 田滢 电编 闫晋利



戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 周艳春, 河北大学医学部 河北省保定市 071000
耿坤静, 河北省保定市传染病院 河北省保定市 071000
耿彦生, 博士, 副教授, 主要从事戊型肝炎病毒的研究。
河北省科技计划基金资助项目, No. 12277726
河北省自然科学基金资助项目, No. H2013201066
作者贡献分布: 实验设计由耿彦生完成; 实验检测由耿彦生、李红权、张宏馨及周艳春完成; 样本收集由耿坤静、廉海晨及李军完成; 数据分析及论文撰写由耿彦生完成。
通讯作者: 耿彦生, 副教授, 071000, 河北省保定市裕华东路342号, 河北大学医学部, ysgeng09@aliyun.com
电话: 0312-5078526
收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-11-27
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2013-12-28

Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients

Yan-Sheng Geng, Hong-Quan Li, Hong-Xin Zhang, Hai-Chen Lian, Jun Li, Kun-Jing Geng, Yan-Chun Zhou

Yan-Sheng Geng, Hong-Quan Li, Hong-Xin Zhang, Hai-Chen Lian, Jun Li, Yan-Chun Zhou, Center for Medical Sciences, Hebei University, Baoding 071000, Hebei Province, China

Kun-Jing Geng, Baoding Hospital for Infectious Diseases, Baoding 071000, Hebei Province, China

Supported by: the Science and Technology Program of Hebei Province, No. 12277726; and the Natural Science Foundation of Hebei Province, China, No. H2013201066

Correspondence to: Yan-Sheng Geng, Associate Professor, Health Science Center, Hebei University, 342 Yuhua East Road, Baoding 071000, Hebei Province, China. ysgeng09@aliyun.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To analyze the correlation of serum hepatitis E virus (HEV) ORF2 antigen with other serum markers of HEV infection and assess the significance of HEV ORF2 antigen detection for the diagnosis of HEV infection.

METHODS: Serum samples collected from sporadic hepatitis E patients were detected for anti-HEV IgM, anti-HEV IgG and HEV-Ag using ELISA kits. HEV RNA was detected by RT-Nested-PCR. The use of hepatitis E virus antigen as an early diagnostic marker for HEV

infection was evaluated by comparing with HEV RNA detection.

RESULTS: Among 116 samples collected for the first time after patient admission to the hospital, 5, 21, 63 and 27 were IgM⁺IgG⁻, IgM⁺IgG⁺, IgM⁻IgG⁺ and IgM⁻IgG⁻, respectively, and the HEV-Ag positive rate in each group was 100% (5/5), 90.5% (19/21), 61.9% (39/63) and 3.7% (1/27), respectively. Out of the 64 HEV-Ag positive samples, 40 (62.5%, 40/64) were HEV RNA positive; while out of the 52 HEV-Ag negative samples, only 1 (1.9%, 2/52) was HEV RNA positive. The consistency between ELISA for ORF2 antigen detection and RT-PCR for HEV RNA was good (Kappa value = 0.582).

CONCLUSION: The presence of HEV antigen is correlated with HEV RNA in serum samples of hepatitis E patients. HEV antigen detection is useful for the early diagnosis of acute hepatitis E.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis E virus; Hepatitis E; HEV ORF2 protein; Antigen detection; ELISA

Geng YS, Li HQ, Zhang HX, Lian HC, Li J, Geng KJ, Zhou YC. Clinical significance of serum hepatitis E virus ORF2 antigen detection in hepatitis E patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4153-4157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4153>

摘要

目的: 研究戊型肝炎患者戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)-Ag与其他检测指标的相关关系, 评价HEV-Ag检测在临床诊断戊型肝炎中的意义。

方法: 116例急性戊型肝炎患者血清标本应用酶联免疫吸附试验试剂盒进行抗HEV IgM、抗HEV IgG和HEV-Ag检测, 应用RT-Nested-PCR进行HEV RNA检测。通过比较分析血清中HEV-Ag与HEV RNA检测结果, 对HEV-Ag检测的临床意义进行评价。

■背景资料

HEV RNA的检测有助于戊型肝炎的早期诊断及慢性肝炎的诊断, 但由于实验程序复杂、成本高等原因, 实际应用较少。HEV感染时血清中能检测到抗HEV ORF2抗原, 目前我国已开发了抗HEV ORF2抗原的ELISA检测试剂盒。

■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■创新盘点

本研究显示戊型肝炎患者血清HEV-Ag与HEV RNA的检测结果显示具有较好一致性; HEV-Ag检测有助于戊型肝炎的早期诊断。

结果: 诊断为戊型肝炎的116例患者初次采集的血清进行HEV感染标志物的检测, 其中55.2%(64/116)为HEV-Ag阳性。116例患者中分别有5、21、63和27例为抗HEV IgM⁻ IgG⁻、IgM⁺ IgG⁻、IgM⁺ IgG⁺和IgM⁻ IgG⁺, 这4组中HEV-Ag的检出率分别为100%、90.5%、61.9%和3.7%。64例抗原阳性样本中40例(62.5%, 40/64)为HEV RNA阳性, 而52例抗原阴性样本中只有1例(1.9%, 1/52)为HEV RNA阴性, 对HEV-Ag检测和HEV RNA检测的结果进行相关性分析, Kappa指数为0.582, 显示血清中HEV-Ag检测和HEV RNA检测具有比较好的一致性。

结论: HEV-Ag与HEV RNA的检测结果显示具有较好的一致性, HEV-Ag检测有助于戊型肝炎的早期诊断及慢性感染的诊断。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 戊型肝炎病毒; 戊型肝炎; HEV ORF2蛋白; 抗原检测; 酶联免疫吸附试验

核心提示: 一些戊型肝炎患者初次就诊时, 血清中尚未出现抗HEV抗体, 但能检测到HEV-Ag或HEV RNA; HEV-Ag与HEV RNA的出现存在较好一致性; 检测抗HEV IgM的同时开展HEV-Ag的检测, 能够提高戊型肝炎的临床诊断水平。

耿彦生, 李红权, 张宏馨, 廉海晨, 李军, 耿坤静, 周艳春. 戊型肝炎患者血清ORF2抗原的检测及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4153-4157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4153>

0 引言

戊型肝炎是由戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)感染引起的一种病毒性肝炎。我国是戊型肝炎的主要流行区之一, 近年来戊肝发病率有上升趋势。戊型肝炎以急性肝炎为主, 也可引起重症肝炎。免疫功能低下的患者感染HEV后, 可发展为持续性感染和慢性戊型肝炎。

急性戊型肝炎的临床表现与甲型肝炎类似, 典型的特征为一过性的病毒血症和转氨酶升高。戊型肝炎的潜伏期为15-60 d, 发病后1 wk左右血清中能够检测到HEV RNA, 3-4 wk后HEV RNA消失; 粪便中HEV RNA的出现和消失都稍晚于血清, 持续时间2-3 wk; 发病后转氨酶水平升高, 一般3 wk左右恢复正常^[1,2]。由于戊型肝炎与其他急性病毒性肝炎的临床表现类似, 需要通过

病原学检测进行确诊。目前急性戊型肝炎的实验诊断比较常用的方法是应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中的抗HEV IgM抗体, 或对抗HEV IgG抗体进行动态检测^[2,3]。但由于病毒抗体的产生需要一定时间, 一些患者就诊时可能尚处于病毒感染的“窗口期”, 即已有病毒血症但不能检测到抗体, 因此PCR检测血清中的HEV RNA有助于急性戊型肝炎的早期诊断^[4]。HEV慢性感染通常发生在免疫抑制患者, 由于免疫力低下, 抗体的产生受到影响, 患者体内虽然有病毒, 但可能检测不到抗HEV抗体, 因此慢性戊型肝炎的诊断主要依靠对HEV RNA的检测。虽然HEV RNA检测是诊断HEV感染的可靠方法, 但由于进行RT-PCR的样本保存条件要求高、检测程序复杂、检测成本高以及易污染产生假阳性等原因, 在实际临床诊断中很少应用。病毒抗原检测的方法易操作、成本低, 已成功用于一些病毒性疾病的诊断中^[5-7]。HEV感染后在血清和粪便样本中能检测到HEV抗原, 我国已经开发了HEV抗原(HEV-Ag)ELISA试剂盒^[8]。本文旨在研究戊型肝炎患者血液中HEV-Ag的出现与HEV RNA的相关关系, 分析HEV ORF2抗原检测在戊型肝炎临床诊断中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-07/2012-06于辽宁省和河北省的两地市级传染病院疑似戊型肝炎并根据医嘱进行抗HEV抗体检测的患者, 保留其静脉血清, -80 °C冻存备用。戊型肝炎的诊断参照戊型病毒性肝炎诊疗规范^[4], 排除酒精、药物、自身免疫性肝损害, 同时排除HAV、HBV、HCV、HDV及CMV和EBV感染。诊断为戊型肝炎的患者, 应用留存的血清进行抗HEV IgM、抗HEV IgG、HEV-Ag及HEV RNA检测。本研究方案经河北大学医学部伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 抗HEV抗体及HEV-Ag检测: 应用北京万泰生物药业有限公司的酶联免疫吸附法检测试剂盒进行血清抗HEV IgM、抗HEV IgG及HEV-Ag的检测。其中HEV-Ag ELISA检测试剂盒采用双抗体夹心法, 应用单克隆抗体捕获并检测HEV ORF2蛋白。检测过程按照试剂盒说明书进行, 反应终止后用酶标仪进行吸光度(A)值测定, 计算S/CO值(S = 样本A值, CO = 临界值), S/CO值>1判断为阳性。

1.2.2 HEV RNA的检测: 应用北京全式金生物有

表 1 患者入院时血清抗HEV抗体及HEV-Ag检测结果

血清抗体 (抗HEV IgM/抗HEV IgG)	n	抗原阳性	
		病例数	阳性率(%)
IgM ⁻ /IgG ⁻	5	5	100
IgM ⁺ /IgG ⁻	21	19	90.5
IgM ⁺ /IgG ⁺	63	39	61.9
IgM ⁻ /IgG ⁺	27	1	3.7
Total	116	64	55.2

■应用要点

目前戊型肝炎的特异性诊断主要通过ELISA方法检测血清中抗HEV IgM抗体, 同时进行HEV-Ag检测, 有助于提高戊型肝炎的诊断水平。

限公司的EasyPure Viral DNA/RNA Kit对血清样本进行RNA提取。按照试剂盒说明书从200 μ L血清中提取病毒RNA, 用40 μ L纯水对所提取的RNA进行回收。取10 μ L RNA提取物, 应用全式金TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix试剂盒, 使用随机引物合成基因组cDNA, 反应条件为42 $^{\circ}$ C 30 min。取7 μ L第一链进行cDNA RT-Nested-PCR的第一轮扩增, 引物为SEB01: 5'-AAY TAT GCW CAG TAC CGG GTT G-3', SEE01: 5'-CCC TTA TCC TGC TGA GCA TTC TC-3'; 取第一轮PCR产物2 μ L作为模板进行第二轮扩增, 引物为SEB11: 5'-GTY ATG YTY TGC ATA CAT GGC T-3', SEB11: 5'-GTY ATG YTY TGC ATA CAT GGC T-3'。PCR反应条件与以前报道相同^[9]。扩增片段长348 nt, 位于HEV基因组的ORF2区域。

1.2.3 基因序列的测定及分析: PCR产物DNA序列测定由北京华大基因科技有限公司进行, 测序引物为SEB11和SEE11, 双向进行。应用DNA Star、MEGA5.2等生物软件对测得PCR片段的基因序列与GenBank中的有代表性不同基因型HEV基因序列进行比对及基因进化树分析, 确定病毒的基因型。

统计学处理 应用SPSS17.0进行统计学分析, 组间率的比较应用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义; 应用Kappa指数对HEV-Ag检测与HEV RNA检测的一致性进行分析。

2 结果

2.1 抗HEV抗体及HEV-Ag检测 选择2010-07/2012-06根据戊型病毒性肝炎诊断标准(行业标准ws301-2008, 卫生部)诊断为戊型肝炎并且其留存静脉血清允许进行本研究的患者共116例。入院后第1次(入院后1-3 d)采集的静脉血血清抗HEV抗体及抗原检测, 结果抗HEV IgM和抗HEV IgG均为阴性(IgM⁻IgG⁻)、抗HEV IgM阳性而抗HEV IgG阴性(IgM⁺IgG⁻)、抗HEV IgM阳性和

抗HEV IgG均阳性(IgM⁺IgG⁺), 以及抗HEV IgM阴性而抗HEV IgG阳性(IgM⁻IgG⁺)的病例数分别为所占比例分别为4.3%(5/116), 18.1%(21/116), 54.3%(63/116)和23.3%(27/116), 其中血清抗HEV IgM⁺IgG⁺的病例所占比例最高。

在116位患者初次就诊时, 64例血清HEV-Ag阳性, 阳性率为55.2%(表1)。在以抗HEV抗体的出现为标志的病毒感染的不同时期, 患者血清抗原阳性率有明显差异, 有5例患者入院时抗HEV IgM和抗HEV IgG为阴性但HEV-Ag为阳性, 阳性率为100%(表1)。而另外3组血清HEV抗原阳性率分别为90.5%(19/21)、58.7%(39/63)和3.7%(1/27), 显示随着血清中抗体的变化抗原从出现到减弱的过程(表1)。

本研究中, 5例入院时血清抗HEV IgM-IgG-的患者, 入院后第2周又进行了抗HEV IgM和抗HEV IgG检测, 结果抗HEV IgM均转为阳性, 表明血清中HEV-Ag的出现可能会早于抗HEV IgM。

2.2 HEV-Ag与HEV RNA的相关关系 对116例患者的入院后初次采集的血清进行HEV RNA检测, 其中41例为HEV RNA阳性, 阳性率为35.3%。血清中HEV-Ag的出现与HEV RNA的出现具有相关性, 在HEV-Ag阳性的64个血清样本中40个为HEV RNA, 检出率为62.5%; 而52个HEV-Ag阴性的样本中只有1个为HEV RNA阳性, 检出率为1.9%, 前者的检出率高于后者($\chi^2 = 21.2$, $P<0.01$)(表2)。对HEV-Ag与HEV RNA两种指标检测结果进行相关性检测, Kappa指数为0.582, 显示两种检测结果的一致性较好, 只是HEV-Ag的检出率高于HEV RNA。62个HEV-Ag阳性样本中的41个HEV RNA同时阳性的样本, S/CO值的中位数为9.74; 而22个HEV RNA阴性样本S/CO值的中位数为3.58。总体来看, 在HEV-Ag阳性样本中能检测到HEV RNA的样本, 其ELISA的S/CO值高于未检测到HEV RNA的样本(图1)。

2.3 戊型肝炎患者HEV基因分型 对41例患者血

■同行评价
本文具有一定临床
指导意义。

表 2 HEV-Ag与HEV RNA的相关关系(n)

HEV-Ag	HEV RNA		合计	Kappa值
	阳性	阴性		
阳性	40	24	64	0.582
阴性	1	51	52	
合计	41	75	116	

清中HEV RNA的PCR扩增产物进行序列测定, 基因进化树分析显示41个HEV病毒分离株中分别有37株、3株和1株各属于基因4型、基因1型和基因3型。这些基因序列已提交GenBank(基因型序列登录号为: KF691570-KF691670)。

3 讨论

我国是戊型肝炎的流行区, 许多地区曾有规模不等的戊型肝炎的暴发流行, 近年散发病例的报告数有增加趋势。长期以来, 戊型肝炎的特异性诊断主要应用ELISA方法检测抗HEV IgM和IgG抗体。抗HEV IgM检测灵敏度较高、方法简便、易于操作, 但若初诊患者采血时间在HEV感染窗口期, HEV抗体未产生, ELISA检测则无法给出可靠的检测结果。而核酸可在HEV感染的早期或窗口期检出, 有利于HEV感染的早期诊断^[8]。与2008年卫生部制定的《戊型肝炎病毒肝炎诊断标准》(ws301-2008)相比, 中国医师协会2009年制定的《戊型肝炎病毒肝炎诊疗规范》中HEV急性感染的诊断指标增加了HEV RNA的检测: 在诊断为急性肝炎的基础上, (1)血清HEV-IgM阳性; (2)急性期和恢复期血清具有HEV-IgG抗体滴度4倍及以上增长; (3)血清和/或粪便HEV RNA阳性, 三项指标中一项阳性即可作为急性戊型肝炎的诊断依据^[4]。本研究中, 有5例患者入院时初次检测抗HEV IgM和IgG均为阴性, 但HEV RNA检测为阳性, 1 wk后抗HEV IgM检测结果均转为阳性, 这个结果与以前的报告一致, 表明在抗HEV抗体出现之前, 一些患者血清中即可检测到HEV RNA。

虽然血清中RNA的检测有助于急性戊型肝炎的早期诊断, 但目前应用PCR检测HEV RNA在临床诊断中很少应用, 其原因除了检测结果不稳定, 容易出现假阳性或假阴性外, 更主要的原因是样本采集及保存条件要求严格、实验操作程序复杂及检测成本高。而HEV-Ag检测则简单、易操作、成本低。目前HEV-Ag检测主要针对HEV ORF2抗原。HEV病毒基因组包含3个

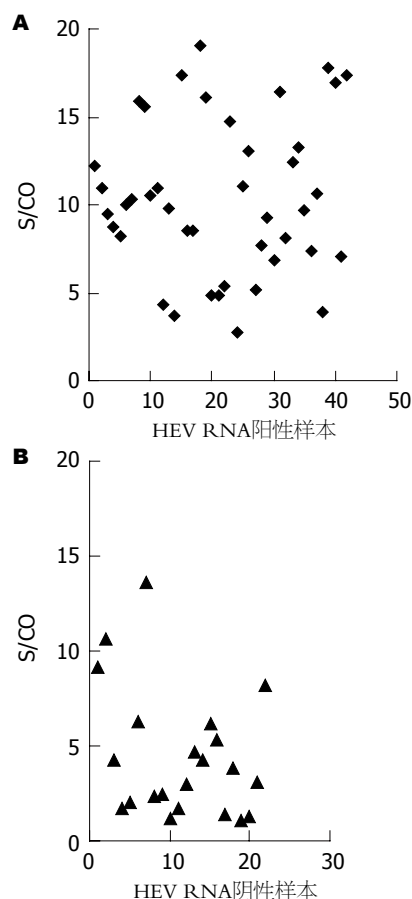


图 1 64个HEV-Ag阳性样本ELISA测定的S/CO值分布图。A: HEV RNA阳性; B: HEV RNA阴性。

开放读码框(ORFs), 分别编码三种蛋白分子, 其中ORF2蛋白为病毒衣壳蛋白, 在病毒感染、吸附、入侵及包装等一系列病毒活动过程中具有重要作用^[10]。研究发现戊型肝炎患者和感染HEV的实验动物血清和粪便中能检测到ORF2抗原, 并且ORF2抗原的出现与HEV RNA的存在具有相关性, 提示检测到的ORF2蛋白可能是存在于病毒体的成分, 而非游离于病毒体外, 因此HEV ORF2抗原阳性可能代表样本中有HEV的存在, ORF2抗原可以作为HEV感染的一个重要标志物用于戊型肝炎临床实验诊断^[11]。本次研究在116例戊型肝炎患者中64例血清HEV Ag阳性, 阳性率为55.2%, 其中5例在感染早期抗-IgM尚未出现之前, 血清中同时检测到了HEV RNA和HEV-Ag, 表明HEV-Ag检测可能能够替代HEV RNA用于戊型肝炎的早期诊断。随着血清中抗HEV IgM、HEV-IgG出现时, HEV-Ag检出的阳性率逐渐下降, 其变化规律与血清中HEV RNA的变化规律相同, 显示这两种检测指标具有关联性, 这一结果也与最近报告的一些研究结果一致^[12-14]。

在116例患者入院时进行HEV感染标志物检测, 其中HEV-Ag与HEV RNA均为阳性41例, 均为阴性51例, 两项指标检出的一致率为78.5%(91/116)。应用Kappa指数, Kappa指数为0.582, 显示两种检测结果一致性较好。对HEV-Ag阳性的64个样本ELISA检测S/CO值进行分析, 总体上看42个HEV RNA阳性样本的S/CO值高于24个HEV RNA阳性样本的S/CO值(图1), 进一步表明HEV RNA与HEV-Ag检测结果具有较强的关联性。

本次实验的116个样本中HEV-Ag和HEV RNA的阳性率分别为55.2%和35.3%, 血清样本HEV-Ag的检测率高于HEV RNA($\chi^2 = 21.2$, $P < 0.01$)。PCR检测的灵敏度受很多因素影响, 前期的研究显示RT-Nested-PCR灵敏度低于Real-time PCR^[11]。但由于Real-time PCR检测成本更高, RT-Nested-PCR检测HEV RNA在临床检测中的使用更为普遍, 因此本研究应用了RT-Nested-PCR与HEV-Ag的检测进行比较。目前我国人群中流行的HEV主要为基因4型, 在一些地区还有1和3型^[15]。为了能够检测到不同基因型HEV, 同时保证检测的灵敏度, 本次研究中应用RT-Nested-PCR扩增ORF2区域348 nt的基因片段进行HEV RNA检测, 所用引物为保守区域的简并引物, 能够检测1、3、4型及兔HEV。

总之, 本研究显示戊型肝炎患者血清HEV-Ag检测与HEV检测结果一致性比较好。在不具备核酸检测条件时, 可检测HEV抗原作为IgM抗体检测的补充, 有利于急性戊型肝炎的早期诊断以及慢性戊型肝炎的确诊。

4 参考文献

- 1 Mushahwar IK. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol* 2008; 80: 646-658 [PMID: 18297720 DOI: 10.1002/jmv.21116]
- 2 Aggarwal R. Hepatitis E: clinical presentation in disease-endemic areas and diagnosis. *Semin Liver Dis* 2013; 33: 30-40 [PMID: 23564387 DOI: 10.1055/s-0033-1338112]
- 3 Teshale EH, Hu DJ. Hepatitis E: Epidemiology and prevention. *World J Hepatol* 2011; 3: 285-291 [PMID: 22216368 DOI: 10.4254/wjh.v3.i12.285]
- 4 中国医师协会感染科医师分会. 戊型病毒性肝炎诊疗规范. *中华临床感染病杂志* 2009; 2: 260-263
- 5 Prendergast C, Papenburg J. Rapid antigen-based testing for respiratory syncytial virus: moving diagnostics from bench to bedside? *Future Microbiol* 2013; 8: 435-444 [PMID: 23534357 DOI: 10.2217/fmb.13.9]
- 6 Ding X, Hu D, Chen Y, Di B, Jin J, Pan Y, Qiu L, Wang Y, Wen K, Wang M, Che X. Full serotype- and group-specific NS1 capture enzyme-linked immunosorbent assay for rapid differential diagnosis of dengue virus infection. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 430-434 [PMID: 21228146 DOI: 10.1128/CVI.00462-10]
- 7 Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses* 2012; 4: 2097-2114 [PMID: 23202455 DOI: 10.3390/v4102097]
- 8 Zhang F, Li X, Li Z, Harrison TJ, Chong H, Qiao S, Huang W, Zhang H, Zhuang H, Wang Y. Detection of HEV antigen as a novel marker for the diagnosis of hepatitis E. *J Med Virol* 2006; 78: 1441-1448 [PMID: 16998897]
- 9 Geng Y, Zhao C, Fan J, Harrison TJ, Zhang H, Lian H, Geng K, Wang Y. Genotype analysis of hepatitis E virus from sporadic hepatitis E cases in northern China. *Infect Genet Evol* 2013; 20: 413-417 [PMID: 24140474 DOI: 10.1016/j.meegid.2013.10.003]
- 10 Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res* 2011; 161: 47-58 [PMID: 21345356 DOI: 10.1016/j.virusres.2011.02.011]
- 11 Zhao C, Li L, Harrison TJ, Wang Q, Song A, Fan J, Ma H, Zhang C, Wang Y. Relationships among viral diagnostic markers and markers of liver function in acute hepatitis E. *J Gastroenterol* 2009; 44: 139-145 [PMID: 19214676 DOI: 10.1007/s00535-008-2281-7]
- 12 郝娃, 赵晨燕, 李卓, 严艳, 牛京勤, 殷继明, 王佑春. 急性戊型肝炎患者血清病毒抗原检测的临床意义. *中国误诊学杂志* 2009; 9: 4285-4286
- 13 Majumdar M, Singh MP, Pujhari SK, Bhatia D, Chawla Y, Ratho RK. Hepatitis E virus antigen detection as an early diagnostic marker: report from India. *J Med Virol* 2013; 85: 823-827 [PMID: 23408566 DOI: 10.1002/jmv.23529]
- 14 Gupta E, Pandey P, Pandey S, Sharma MK, Sarin SK. Role of hepatitis E virus antigen in confirming active viral replication in patients with acute viral hepatitis E infection. *J Clin Virol* 2013; 58: 374-377 [PMID: 23965185 DOI: 10.1016/j.jcv.2013.07.019]
- 15 Liu P, Li L, Wang L, Bu Q, Fu H, Han J, Zhu Y, Lu F, Zhuang H. Phylogenetic analysis of 626 hepatitis E virus (HEV) isolates from humans and animals in China (1986-2011) showing genotype diversity and zoonotic transmission. *Infect Genet Evol* 2012; 12: 428-434 [PMID: 22306814 DOI: 10.1016/j.meegid.2012.01.017]

编辑 田滢 电编 闫晋利



血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝病的相关性

罗晓英, 曾 峥

■背景资料

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率逐年上升且发病年龄日趋提前,其发病机制复杂,与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、脂质代谢紊乱等多因素密切相关。研究表明,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)能促进IR及脂肪细胞肥大, RAS中的血管紧张素 II (Ang II)在NAFLD的发病发挥重要作用。本研究旨在探讨血浆RAS与NAFLD发生进展的相关性,为NAFLD机制探讨提供理论依据。

■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科

罗晓英, 曾峥, 广州医科大学附属广州市第一人民医院老年病科 广东省广州市 510180

罗晓英, 在读硕士, 住院医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

2011年广州市卫生局中西医结合基金资助项目, No.

20112A011009

作者贡献分布: 本课题由曾峥设计; 研究过程和数据分析由罗晓英操作完成; 病例收集由罗晓英完成; 论文写作由罗晓英与曾峥共同完成; 曾峥负责审核。

通讯作者: 曾峥, 主任医师, 510180, 广州市越秀区盘福路1号, 广州市第一人民医院老年病科. sunnyzeng@163.com

电话: 020-81046965

收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-11-17

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Ying Luo, Zheng Zeng

Xiao-Ying Luo, Zheng Zeng, Department of Geriatrics, Guangzhou First People's Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China

Supported by: the Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Foundation of Guangzhou Sanitary Bureau, NO. 20112A011009

Correspondence to: Zheng Zeng, Chief Physician, Department of Geriatrics, Guangzhou First People's Hospital, 1 Panfu Road, Yuexiu District, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China. sunnyzeng@163.com

Received: 2013-09-23 Revised: 2013-11-17

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between plasma renin-angiotensin system (RAS) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Three hundred and fifty hospitalized patients and outpatients who had complete medical records were collected and divided into two groups: a NAFLD group and a control group. NAFLD was diagnosed by abdominal CT and clinical symptoms. Plasma renin activity (PRA), angiotensin I (Ang I), angiotensin II (Ang II), as well as serum biochemical parameters were measured. The association between those indexes and NAFLD was analyzed.

RESULTS: The concentrations of plasma RAS

(including PRA, Ang I, and Ang II) in the NAFLD group were higher than those in the control group (all $P < 0.05$); but HDL-C in NAFLD patients was lower ($P < 0.01$). PRA, Ang I and Ang II were positively associated with the severity of NAFLD ($P = 0.000$), but negatively with the ratio of CT value of the liver to that of the spleen ($P < 0.05$). PRA was an independent risk factor for the occurrence of NAFLD ($B = 0.034$, $OR = 1.034$, $P = 0.012$).

CONCLUSION: Increased plasma RAS plays a significant role in the occurrence and progress of NAFLD.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Renin-angiotensin system; Plasma renin activity; Angiotensin; Nonalcoholic fatty liver disease

Luo XY, Zeng Z. Relationship between plasma renin-angiotensin system and nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4158-4163
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4158.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4158>

摘要

目的: 探讨血浆肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)与非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发生进展的相关性。

方法: 收集350例住院和体检者,经腹部CT检查及临床诊断分NAFLD组与对照组,检测血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)、血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)及生化指标,统计分析上述因素与NAFLD的关系。

结果: NAFLD组的血浆RAS(包括PRA、Ang I、Ang II)含量均较对照组显著升高($P < 0.05$); PRA、Ang I、Ang II均与NAFLD的严重程度(正常、轻度、中度、重度)呈正相关($P = 0.000$),而与肝/脾CT值比呈负相关($P < 0.05$)。PRA可作为NAFLD发病的独立危险

因素($B = 0.034$, $OR = 1.034$, $P = 0.012$).

结论: 血浆RAS的激活对NAFLD的发生进展有重大影响.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肾素-血管紧张素系统; 血浆肾素活性; 血管紧张素; 非酒精性脂肪肝病

核心提示: 本研究结果显示, 非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者血浆肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)[包括血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)、血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)]浓度均明显升高, 且随着NAFLD的进展血浆RAS浓度有上升趋势; RRA是NAFLD发生的独立危险因素, 提示RAS是NAFLD发生进展的机制之一.

罗晓英, 曾峥. 血浆肾素-血管紧张素系统与非酒精性脂肪肝病的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4158-4163
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4158>

0 引言

伴随人们生活水平的提高和不良生活方式的扩大化, 非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的人数逐年增加且发病年龄日趋提前. 据统计, 广东省NAFLD患病率已达15%^[1], 广州市城市居民的患病率亦升至13.7%^[2]. NAFLD发病机制复杂, 至今尚未完全明确. 肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是一类血管调节因子, 通过内分泌作用, 能分泌肾素(renin, REN)、血管紧张素 I (angiotensin I, Ang I)和血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II). 近期研究表明^[3], 血浆RAS和肝脏RAS与脂肪肝、肝纤维化、肝硬化有密切联系, 其中Ang II为主要活性物质在胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、炎症、增生等发病过程中具有重要作用^[4-6], 但多数研究局限在细胞和动物水平, 临床研究尚不足, 且仅针对RAS中Ang II对NAFLD的作用, 而REN对NAFLD的影响国内外鲜有报道. 本研究对广州市第一人民医院350例住院和体检者(其中临床诊断为NAFLD的159例, 非NAFLD的191例)检测其血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)、Ang I及Ang II, 分析血浆RAS在NAFLD发生进展的变化, 进一步探讨血浆RAS在NAFLD发生进展

的作用机制, 为NAFLD发生、转归的评价寻求合适的诊断指标.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2013-06广州市第一人民医院住院和体检者350例, 年龄在20-95岁, 根据肝脏CT结果及临床诊断, 分为NAFLD组159例和对照组191例. 肾素、血管紧张素 I 及血管紧张素 II (增强化学发光法)试剂盒均购自广东虹业抗体科技有限公司. 320排螺旋CT(东芝Aquilion ONE)、全自动生化分析仪(日立7600型)、虹业化学发光免疫分析仪.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)NAFLD组: 按照“中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组的非酒精性脂肪肝病诊疗指南”^[7]标准诊断为NAFLD, 并根据肝/脾CT值比结果分轻度($0.7 < \text{CT值比} < 1.0$)、中度($0.5 < \text{CT值比} \leq 0.7$)、重度($\text{CT值比} \leq 0.5$); (2)对照组: 无饮酒史或饮酒折合乙醇量 $< 140 \text{ g/wk}$ (男), $< 70 \text{ g/wk}$ (女); 肝脏CT提示无明显异常.

1.2.2 排除标准: (1)排除病毒性肝炎、酒精性肝病、肝硬化、原发性肝癌、药物性肝损害、甲状腺功能亢进或减退症、自身免疫性疾病、高血压、严重心律失常、冠心病、醛固酮增多症、肾上腺肿瘤、糖尿病、肾功能不全; (2)排除长期服用RAS阻断剂(包括肾素抑制剂、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素受体拮抗剂)、醛固酮拮抗剂及降脂药的患者; (3)排除精神病及严重神经官能症者.

1.2.3 资料采集: (1)一般情况: 姓名、性别、年龄、饮酒史、吸烟史、既往病史; (2)腹部CT: 由CT医师检查, 于同一CT层面上测出肝和脾的CT值, 计算肝/脾CT值比.

1.2.4 血液标本测定: 所有研究对象空腹8 h后, 取仰卧位, 采静脉血6 mL. (1)采用全自动生化分析仪检测生化指标: 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、 γ -谷氨酰转移酶(gamma glutamyl transferase, GGT)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、空腹血

■ 研发前沿

近年研究发现RAS和肝脏RAS与脂肪肝、肝硬化、肝纤维化有密切联系. RAS在NAFLD的发病机制的作用逐渐成为研究热点, 但多数研究局限在细胞和动物水平, 临床研究尚不足, 且仅针对RAS中Ang II对NAFLD的作用, 而肾素(renin, REN)对NAFLD的影响国内外鲜有报道, 有待进一步探讨.

■ 相关报道

RAS在NAFLD发病发挥关键作用, 动物实验和临床研究均发现, RAS的激活增加了机体胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)及肝脏脂质过氧化致使肝组织发生脂肪变、炎症及纤维化; 而肝脏损伤能上调肝脏中局部RAS, 在慢性肝病和肝硬化患者中系统和局部RAS活性增加, 如此相互作用形成恶性循环.

■创新盘点

本研究全面比较NAFLD患者与正常者血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)浓度,分析血浆RAS与NAFLD严重程度及生化指标的相关性,并运用多因素Logistic回归分析探讨了RAS中对NAFLD发生的关键危险因素。

表 1 对照组和NAFLD组各指标比较(mean ± SD)

指标	分组		值	P值
	对照组	NAFLD组		
<i>n</i>	191	159		
ALT(U/L)	14.25 ± 8.23	22.79 ± 14.11 ^b	-6.720	0.000
AST(U/L)	19.94 ± 6.18	21.87 ± 9.17 ^a	-2.254	0.025
GGT(U/L)	28.65 ± 20.85	39.70 ± 27.80 ^b	-4.118	0.000
CHE(U/L)	6795.35 ± 1546.98	7820.03 ± 1826.13 ^b	-4.881	0.000
ALP(U/L)	78.34 ± 41.06	77.02 ± 21.20	0.334	0.739
TG(mmol/L)	1.24 ± 0.81	1.98 ± 1.20 ^b	-6.509	0.000
TC(mmol/L)	4.55 ± 0.92	4.83 ± 1.04 ^b	-2.650	0.008
HDL-C(mmol/L)	1.22 ± 0.31	1.05 ± 0.23 ^b	5.690	0.000
LDL-C(mmol/L)	2.59 ± 0.77	2.86 ± 0.84 ^b	-3.127	0.002
FBG(mmol/L)	5.32 ± 0.96	5.66 ± 1.15 ^b	-2.835	0.005
2 h PBG(mmol/L)	9.24 ± 4.86	9.78 ± 3.98	-0.885	0.377
HbA1c(%)	6.04 ± 1.17	6.20 ± 1.15	-1.016	0.311
PRA(pg/mL)	27.58 ± 22.75	41.94 ± 32.97 ^b	-4.465	0.000
Ang I(ng/mL)	2.05 ± 1.37	3.10 ± 1.98 ^b	-5.095	0.000
Ang II(pg/mL)	73.43 ± 99.60	129.32 ± 138.03 ^b	-3.865	0.000

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 对照组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: γ-谷氨酰转氨酶; CHE: 胆碱酯酶; ALP: 碱性磷酸酶; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; 2 h PBG: 餐后2 h血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; PRA: 血浆肾素活性; NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

糖(fasting blood glucose, FBG)、餐后2 h血糖(2 h postprandial blood glucose, 2 h PBG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c); (2)采用增强化学发光法测定血浆肾素活性(卧位)(plasma renin activity, PRA)、血Ang I、Ang II.

统计学处理 SPSS17.0软件处理, 计数资料进行Spearson相关, 计量资料进行*t*检验和Pearson相关, 并行多因素非条件Logistic回归分析, 检验均取双侧 $\alpha = 0.05$ 为显著性临界水平, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

本研究对象350例, 男189例, 女161例. NAFLD组159例, 男: 女 = 93: 66; 对照组191例, 男: 女 = 96: 95. NAFLD组平均年龄53.9岁 ± 20.7岁, 对照组平均年龄57.1岁 ± 16.0岁. 两组性别和年龄均无统计学差异(*P*>0.05).

2.1 NAFLD组与对照组血液指标比较 经两独立样本*t*检验, 与对照组相比, NAFLD组的ALT、AST、GGT、CHE、TG、TC、LDL-C)、FBG、血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)均显著升高(*P*<0.05), 而HDL-C则显著降低(*P*<0.01), 差异有统计学意义(表1).

2.2 血浆RAS与NAFLD发生进展及生化指标的关系

2.2.1 血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)与NAFLD发生进展的相关性: PRA、Ang I、Ang II均与NAFLD的严重程度(正常、轻度、中度、重度)呈正相关(*P* = 0.000). PRA、Ang I、Ang II均与肝/脾CT值比呈负相关(*P*<0.05, 表2).

2.2.2 血浆RAS与生化指标的相关性: (1)血浆RAS与肝功能呈正相关: PRA与GGT呈正相关(*P* = 0.000); Ang I与ALT、GGT、CHE呈正相关(*P*<0.05); Ang II与ALT、GGT呈正相关(*P*<0.05); (2)血浆RAS与血脂指标的相关性: PRA与LDL-C呈正相关(*P* = 0.010), 但与TG、TC、HDL-C无明显相关性(*P*>0.05); Ang I与TG呈正相关(*P* = 0.016), 但与TC、LDL-C无明显相关性(*P*>0.05); Ang II与血脂指标无明显相关(*P*>0.05); (3)血浆RAS与FBG均无明显相关性(*P*>0.05, 表2)

2.3 NAFLD发生的多因素分析 以“是否患NAFLD”为应变量, “TG、TC、HDL-C、LDL-C、FBG、PRA、Ang I、Ang II”为自变量, 进行多因素Logistic回归分析: PRA和TG可分别作为NAFLD发病的独立危险因素(*B* = 0.034, *OR* = 1.034, *P* = 0.012; *B* = 0.659,

表 2 血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)与NAFLD严重程度及生化指标的关系

指标	PRA		Ang I		Ang II	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
NAFLD严重程度 ¹	0.276 ^b	0.000	0.303 ^d	0.000	0.280 ^f	0.000
肝/脾CT值比 ¹	-0.190 ^a	0.029	-0.182 ^c	0.035	-0.210 ^e	0.014
ALT	0.112	0.052	0.167 ^d	0.004	0.159 ^f	0.006
AST	0.055	0.342	0.107	0.065	0.079	0.174
GGT	0.225 ^b	0.000	0.202 ^d	0.000	0.252 ^f	0.000
CHE	0.101	0.139	0.159 ^c	0.019	0.080	0.239
TG	0.073	0.212	0.139 ^c	0.016	0.107	0.065
TC	0.112	0.054	0.049	0.403	0.053	0.359
HDL-C	-0.114	0.050	-0.114 ^c	0.049	-0.100	0.086
LDL-C	0.149 ^a	0.010	0.096	0.098	0.081	0.163
FBG	-0.024	0.693	-0.002	0.979	-0.039	0.514
PRA	-	-	0.674 ^d	0.000	0.756 ^f	0.000
Ang I	0.674 ^b	0.000	-	-	0.653 ^f	0.000
Ang II	0.756 ^b	0.000	0.653 ^d	0.000	-	-

¹运用Spearman相关, 其余指标运用Pearson相关; ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs PRA; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs Ang I; ^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ vs Ang II. NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: γ -谷氨酰转氨酶; CHE: 胆碱酯酶; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; PRA: 血浆肾素活性; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

表 3 NAFLD发病的多因素Logistic回归分析

自变量	B	SE	Wald χ^2	OR	95%CI for OR	P值
常数项	-2.868	1.610	3.173	0.057		0.075
TG	0.659	0.317	4.322	1.933	1.038-3.598	0.038
TC	-1.281	0.784	2.672	0.278	0.060-1.290	0.102
HDL-C	-0.693	1.405	0.243	0.500	0.032-7.853	0.622
LDL-C	0.237	0.817	0.084	1.268	0.256-6.293	0.771
FBG	0.279	0.183	2.337	1.322	0.924-1.892	0.126
PRA	0.034	0.013	6.339	1.034	1.008-1.062	0.012
Ang I	-0.007	0.151	0.002	0.993	0.739-1.334	0.962
Ang II	0.000	0.002	0.078	0.999	0.995-1.004	0.780

NAFLD: 非酒精性脂肪肝病; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; PRA: 血浆肾素活性; Ang I: 血管紧张素I; Ang II: 血管紧张素II.

OR = 1.933, $P = 0.038$), 回归方程为: $\ln[p/(1-p)] = -2.868 + 0.034\chi^1 + 0.659\chi^2$. 而TC、HDL-C、LDL-C、FBG、Ang I、Ang II未能进入回归方程($P>0.05$, 表3).

3 讨论

3.1 RAS与NAFLD发生进展的关系 NAFLD是一种受遗传基因、生活方式、社会环境等多因素影响的肝脏脂肪性病变. NAFLD与IR、肥胖、2型糖尿病、高脂血症及心血管疾病等代谢综合征密切相关^[8]. 而NAFLD的发病机制至今尚未

完全明确, 目前认为IR、氧化应激等因素能导致脂肪性肝病发生炎症、坏死和纤维化^[9]. RAS由RE)、血管紧张素原和Ang组成, 循环中的血管紧张素原在REN作用下, 生成Ang I, Ang I经过血管紧张素转换酶的作用生成Ang II, Ang II最具广泛生物学活性, 作用于全身多个器官. 循环中REN的增多可导致组织内Ang II持续生成, 进而导致疾病的发生^[10]. 国内外基础实验发现RAS的激活, 可促进炎症反应、氧化应激、交感神经系统的活性等引起IR及肝脏脂质过氧化致使肝组织发生脂肪变、炎症及纤维化^[11-14]; 既往

■应用要点

本研究通过增强化学发光法检测PRA、Ang I及Ang II浓度, 该检测方法准确、快速、简便, 能定量分析血浆RAS在NAFLD发生进展中的作用; 且血浆RAS的浓度与NAFLD的严重程度呈正相关, 提示血浆RAS活性检测可作为NAFLD严重程度评价的辅助指标之一.

■名词解释

非酒精性脂肪肝病: 除外酒精和其他明确的肝损害因素所致, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变和脂肪沉积为主要特征的临床病理综合征; RAS: 由REN、血管紧张素原和Ang组成, 循环中的血管紧张素原在REN作用下, 生成Ang I, Ang I经过血管紧张素转换酶的作用生成Ang II, Ang II最具广泛生物学活性, 作用于全身多个器官。此外, 检测人体血浆中REN含量以血浆肾素活性表达。

临床研究发现慢性肝炎和肝硬化患者中循环和局部RAS浓度有所增加^[15,16], 肝细胞的损伤亦能上调肝脏中局部RAS活性^[17,18]。本研究亦发现NAFLD患者血浆RAS(包括PRA、Ang I、Ang II)浓度均明显升高, PRA、Ang I、Ang II分别与肝/脾CT值比呈负相关, 与NAFLD严重程度呈正相关, 揭示了随着NAFLD的进展血浆RAS活性有上升趋势; 与对照组相比, NAFLD组肝功能(ALT、GGT)较高, 提示NAFLD患者肝细胞有一定程度损害, 而肝功能与血浆RAS含量呈正相关, 再次揭示肝细胞损害能上调RAS。经多因素Logistic回归分析, PRA的升高可作为NAFLD发生的独立危险因素, 提示一旦PRA增加, 循环中Ang II持续增加, 循环RAS得到激活, 从而促进机体IR和氧化应激, 能增加NAFLD发病的危险性甚至加速NAFLD的恶化。RAS的激活与肝脏脂肪变、炎症发展如此相互作用形成恶性循环。此外, 本研究发现血浆RAS与血脂有一定的相关性(如PRA与LDL-C呈正相关, Ang I与TG呈正相关), 据报道RAS的激活亦可通过上调血管紧张素受体-1(angiotensin type 1 receptor, ATR1)而影响肝脏脂肪酸代谢^[19], 提示RAS的激活可能直接使脂质代谢紊乱而致肝脂肪变。总之, 血浆RAS是NAFLD发病的关键机制之一。

3.2 PRA的检测可作为NAFLD发生进展的辅助评价指标 本研究通过Logistic回归分析发现PRA是NAFLD发生的独立危险因素, 而Ang I、Ang II虽对NAFLD的发生进展呈正相关, 但未能进入回归方程, 说明PRA对NAFLD发病的影响强于Ang I和Ang II, 可认为Ang I和Ang II对NAFLD发生进展的作用可能因PRA的增加, 经RAS激活途径, 从而以生物活性最强的Ang II发挥作用。可见PRA可作为NAFLD发生进展评价的辅助指标。NAFLD诊断的金标准是肝活检病理诊断, 但手术创伤性和风险性较大、且费用高、在临床上难以普遍开展, 不适于NAFLD的普查和转归预后的评价。本研究通过增强化学发光法检测血浆RAS(PRA、Ang I、Ang II)浓度, 该方法具准确、快速、简便等优点, 因此可考虑运用增强化学发光法检测PRA辅助评价NAFLD的严重程度, 为NAFLD早期诊断和转归的评价有重要意义。

4 参考文献

- 1 周永健, 李瑜元, 马金香, 聂玉强. 广东省城市成人脂肪肝患病率调查. 广东医学 2008; 29: 1085-1087
- 2 曹创裕, 曾峥, 李瑜元. 非酒精性脂肪肝病的流行现状

- 3 及自然病程调查. 广东医学 2010; 31: 2850-2852
- 4 汪亮, 张霞. 肾素-血管紧张素系统在非酒精性脂肪肝发病中的作用. 重庆医学 2010; 39: 3139-3149
- 5 Manrique C, Lastra G, Gardner M, Sowers JR. The renin angiotensin aldosterone system in hypertension: roles of insulin resistance and oxidative stress. *Med Clin North Am* 2009; 93: 569-582 [PMID: 19427492 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.02.014]
- 6 Kitade M, Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, Yamazaki M, Uemura M, Yamao J, Fujimoto M, Mito A, Toyohara M, Sawai M, Yoshida M, Morioka C, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. Crosstalk between angiogenesis, cytokeratin-18, and insulin resistance in the progression of non-alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5193-5199 [PMID: 19891019 DOI: 10.3748/wjg.15.5193]
- 7 Singh VP, Le B, Khode R, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. *Diabetes* 2008; 57: 3297-3306 [PMID: 18829990 DOI: 10.2337/db08-0805]
- 8 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
- 9 Ampuero J, Romero-Gómez M. [Influence of non-alcoholic fatty liver disease on cardiovascular disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2012; 35: 585-593 [PMID: 22541252 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.02.005]
- 10 Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 195-203 [PMID: 20195271 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.21]
- 11 Iravanian S, Dudley SC. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and cardiac arrhythmias. *Heart Rhythm* 2008; 5: S12-S17 [PMID: 18456194 DOI: 10.1016/j.hrthm.2008.02.025]
- 12 崔卫东, 张年宝, 黄顿松, 丁伯平. 局部肾素-血管紧张素系统与相关疾病. 中国医药导报 2011; 8: 12-13
- 13 张利莉, 袁莉. 血管紧张素II信号系统与胰岛素信号转导. 国际内科学杂志 2008; 35: 8-12
- 14 张凤, 周华梅, 张霞. 肾素-血管紧张素系统阻断剂治疗代谢综合征的进展. 中国药业药专论 2012; 21: 21-24
- 15 Pereira RM, dos Santos RA, da Costa Dias FL, Teixeira MM, Simões e Silva AC. Renin-angiotensin system in the pathogenesis of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2579-2586 [PMID: 19496186 DOI: 10.3748/wjg.15.2579]
- 16 Helmy A, Jalan R, Newby DE, Hayes PC, Webb DJ. Role of angiotensin II in regulation of basal and sympathetically stimulated vascular tone in early and advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 2000; 118: 565-572 [PMID: 10702208 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70263-0]
- 17 Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, Purdie DM, Jonsson JR. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 31: 828-833 [PMID: 10733535 DOI: 10.1053/he.2000.6253]
- 18 Paizis G, Cooper ME, Schembri JM, Tikellis C, Burrell LM, Angus PW. Up-regulation of components of the renin-angiotensin system in the bile duct-ligated rat liver. *Gastroenterology* 2002; 123: 1667-1676 [PMID: 12404241 DOI: 10.1053/gast.2002.36561]

18 Ueki M, Koda M, Yamamoto S, Matsunaga Y, Murawaki Y. Preventive and therapeutic effects of angiotensin II type 1 receptor blocker on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rats. *J Gastroenterol* 2006; 41: 996-1004 [PMID: 17096069 DOI:

10.1007/s00535-006-1891-1]
19 de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2010; 100: 525-534 [PMID: 20381510 DOI: 10.1016/j.physbeh.2010.03.018]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利

■同行评价

RAS与NAFLD密切相关, 本文从临床角度探讨血浆RAS是NAFLD发生进展的机制之一, 有一定的创新意义。



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录。

乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性

柯月, 杨涛, 姚萍

■背景资料

随着生活水平及生活压力提高, 饮食结构和生活方式改变, 脂肪肝患病率有增无减, 且伴有肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)样症状, 同样功能性胃肠病的患者也会出现高血脂症、脂肪肝等脂代谢相关疾病。当前两者之间的相关性在临床上尚未有大样本的研究。

柯月, 杨涛, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

柯月, 硕士, 主要从事非酒精性脂肪肝的研究。

作者贡献分布: 此课题由姚萍设计; 研究过程由姚萍、柯月及杨涛操作完成; 数据分析由柯月及杨涛完成; 论文写作、修改由柯月、杨涛与姚萍完成。

通讯作者: 姚萍, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化内科。

pingyaozh@sina.com

电话: 0991-4362608

收稿日期: 2013-09-21 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2013-12-28

Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi

Yue Ke, Tao Yang, Ping Yao

Yue Ke, Tao Yang, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2013-09-21 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To detect the prevalence of irritable bowel syndrome (IBS) in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients and normal people undergoing health examination in Urumqi to investigate the correlation between the two diseases.

METHODS: Using simple random sampling method, we divided people undergoing health examination in Urumqi into two groups: NAFLD patients and normal controls. The screened NAFLD patients underwent a questionnaire survey, biochemical tests and abdominal ultrasound to demonstrate whether they had IBS. The prevalence of IBS was compared

between the two groups. Univariate and multivariate analyses were performed to analyze the risk factors for IBS.

RESULTS: The detection rate of IBS was 12.5% in normal people and 23.2% in NAFLD patients, and there was a significant difference between the two groups ($P < 0.01$). The detection rate was significantly different among people with severe, moderate or mild NAFLD ($P < 0.05$). Body mass index (BMI) (OR = 0.918), triglyceride (OR = 0.855), fatty liver (OR = 0.525) and ethnicity ($P = 0.316$) might serve as the most important risk factors for IBS.

CONCLUSION: The detection rate of IBS was higher in NAFLD patients than in normal controls, suggesting that IBS and NAFLD have a close relation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Irritable bowel syndrome; Detection rates; Risk factors

Ke Y, Yang T, Yao P. Association between nonalcoholic fatty liver disease and irritable bowel syndrome in populations undergoing health examination in Urumqi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4164-4169
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4164.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4164>

摘要

目的: 研究乌鲁木齐市健康体检人群非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)和正常人群中肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)样症状的检出率, 以探讨二者的相互关系。

方法: 用单纯随机抽样方法, 对乌鲁木齐市健康体检人群中NAFLD人群作为初筛, 以正常人群为对照组, 再对筛出的人群进行问卷调查, 结合生化、腹部超声检查等相关资料, 分析体检人群NAFLD及正常人群中IBS样症状

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院
消化内科

的检出率, 比较两者出现IBS样症状的差异。采用秩和检验、单因素和多因素logistic回归分析对NAFLD与IBS样症状进行相关性分析。

结果: 正常人群和NAFLD中IBS样症状检出率分别为12.5%、23.2%, 两者检出率有显著差异($P<0.01$); NAFLD的严重程度致IBS样症状的检出率有差别($P<0.05$), 且差别存在于轻度、中度及重度脂肪肝之间; 经多因素回归分析, 体质量指数、甘油三酯、脂肪肝及族别为IBS样症状最具可能性的危险因素, 其OR值分别为0.918、0.855、0.525及0.316。

结论: 乌鲁木齐市体检人群NAFLD中IBS样症状的检出率较高, IBS样症状与NAFLD有密切关系。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 肠易激综合征样症状; 检出率; 危险因素

核心提示: 目前较多研究从多个方面均显示非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease)与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)有着密切联系, 而本次研究亦表明两者之间存在相关性, 且不同严重程度脂肪肝影响着IBS样症状的检出率。根据研究结果, 可为临床治疗提供一定的依据, 值得临床中进一步推广。

柯月, 杨涛, 姚萍. 乌鲁木齐市体检人群非酒精性脂肪肝与肠易激综合征样症状的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4164-4169 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4164>

0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素外所致的, 与胰岛素抵抗和遗传易感性相关的代谢应激性肝损伤^[1,2]。肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和/或大便性状异常, 并缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常的功能性肠病^[3]。近年来, 随着生活水平及生活压力提高, 饮食结构和生活方式改变, 脂肪肝患病率有增无减, 临床上发现诸如脂肪肝、高脂血症等脂代谢紊乱相关疾病的患者, 同时出现腹痛、腹胀、腹泻等IBS样症状, 许多诊断为功能性胃肠病的患者也会出现高脂血症、脂肪肝等脂代谢相关疾病。以上两者之间在临床上的相关性尚未见有大样

本的研究, 故本文就2012-01/2012-06在新疆医科大学第一附属医院进行健康体检人群中NAFLD与IBS样症状的相关性研究结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 采用单纯随机抽样方法, 排除妊娠妇女、有饮酒史、糖尿病、甲状腺疾病、明显心肝肾肾功能异常、腹部手术史、慢性胆囊炎、胆石症及诊断明确病毒性肝炎、肝硬化和肝癌患者。将2012-01/2012-06在新疆医科大学第一附属医院进行体检的人群作为研究对象, 共计945例, 其中NAFLD人群470例, 失访22例(失访率4.7%), 正常人群475例, 失访43例(失访率9.1%), 有效研究对象880例, 男424例, 女456例, 年龄20-80岁; 汉族822例, 维吾尔族58例。

1.2 方法

1.2.1 一般情况调查: 设计使用统一的流行病学调查问卷, 由经专门培训人员进行问卷调查, 再分别将NAFLD人群与正常人群分为A、B两组, 两组人群在性别构成、年龄、民族、文化程度及既往病史(高血压病史)经检验差异无统计学意义($P>0.05$, 表1)。

1.2.2 体格测量: 测量身高、体质量并计算体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高²(m²), 坐位测量右上臂肱动脉血压。

1.2.3 生化指标检测: 禁食12 h后清晨空腹肘静脉血2 mL, 检测血脂(甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇)、肝功能、肾功能(尿酸)。行血、尿常规检查。

1.2.4 B超检查及判断标准: 使用统一LOGIQ-S6型号的超声检查仪, 探头频率为5.0 Hz。固定由1名高年资超声诊断科医师进行肝脏超声检查后出具诊断报告。脂肪肝诊断标准^[4]: (1)肝区近场回声弥漫性增强(强于肾脏和脾脏), 远场回声逐渐衰减; (2)肝内管道结构显示不清; (3)肝脏轻至中度肿大, 边缘角圆钝; (4)彩色多普勒血流显像提示肝内彩色血流信号减少或不易显示, 但肝内血管走向正常; (5)肝右叶包膜及横膈回声显示不清或不完整。具备上述第1项及第2-4项中一项者为轻度脂肪肝; 具备上述第1项及第2-4项中两项者为中度脂肪肝; 具备上述第1项及第2-4项中两项和第5项者为重度脂肪肝。

1.2.5 其他诊断标准: NAFLD诊断标准按中华医学会肝脏病分会脂肪肝和酒精性肝病学会“非酒精性脂肪性肝病诊疗指南”2006年修订的诊断标准^[5], 空腹肝脏彩超提示弥漫性脂肪肝, 同

■ 研发前沿

近年来, 研究发现肠道黏膜屏障、炎症因素及肠道菌群对非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)及IBS发病均有所影响, 目前NAFLD及IBS均缺乏有效的药物治疗方法, 通过对两者间相关性的阐明, 以求进一步解决临床治疗这一难题。

■相关报道

Szabo等在NAFLD发病机制方面的研究表明NAFLD发病过程中可引发IBS样症状,两者有着相关性,与本文结果相符,而在临床上两者间相关性的证据还不充分,仍需进一步验证。

表 1 两组人群性别、年龄、族别、文化程度及既往病史对比

分组	性别		年龄(岁)		民族		文化程度		既往病史	
	男	女	≤50	>50	汉族	维吾尔族	文盲	非文盲	有高血压	无高血压
A组	226	222	318	130	422	26	4	444	44	404
B组	198	234	322	110	400	32	4	428	27	405
χ^2 值	1.875		1.401		0.919		0.003		3.782	
P值	0.178		0.256		0.345		1.000		0.063	

A组: NAFLD人群; B组: 正常人群。

表 2 正常人群与NAFLD人群肠易激综合征样症状检出率的比较

分组	肠易激综合征样症状		非肠易激综合征样症状	
	n	检出率(%)	n	检出率(%)
正常人群	54	12.5	378	87.5
NAFLD人群	104	23.2 ^b	344	76.8
总计	158	18.0	722	82.0

^b $P<0.01$ vs 正常人群。NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

时符合无饮酒史或饮酒量折合乙醇量男<20 g/d, 女<10 g/d, 并除外病毒性肝炎、药物性肝病、肝豆状核变性、全胃肠外营养和自身免疫性肝病。IBS样症状诊断标准主要根据罗马III标准^[6]并排除既往有腹部大手术、消化性溃疡、溃疡性结肠炎、糖尿病及甲状腺功能亢进等疾病。超重/肥胖: 以BMI ≥ 24 kg/m²为超重, BMI ≥ 28 kg/m²为肥胖; 高血压: 收缩压(systolic blood pressure, SBP) ≥ 140 mmHg和/或舒张压(diastolic blood pressure, DBP) ≥ 90 mmHg, 或既往有高血压病史者; 高血脂: 总胆固醇(total cholesterol, TC) ≥ 5.2 mmol/L和/或甘油三酯(triglyceride, TG) ≥ 1.7 mmol/L; 空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG) ≥ 7.0 mmol/L诊断为糖尿病, 空腹血糖 ≥ 6.1 mmol/L定义为高血糖。

统计学处理 采用Excel建立数据库, 对所有数据进行整理, 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析。率的比较用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 差异有统计学意义; 同时对非参数等级资料进行秩和检验; 相关性分析采用Logistic回归分析。

2 结果

2.1 正常人群与NAFLD人群中IBS样症状检出率的比较 在体检人群中, 正常人群IBS样症状检出率为12.5%; NAFLD人群IBS样症状检出率为23.2%, NAFLD中IBS样症状检出率高于正常人群, 且差异有统计学意义($P<0.01$, 表2)。

2.2 不同程度NAFLD人群中IBS样症状检出率的比较 NAFLD的程度分为轻、中、重度, 分别设定为A、B、C 3组, A组共212例, IBS样症状检出率为11.3%; B组共188例, IBS样症状检出率为27.7%; C组共48例, IBS样症状检出率为58.3%。3组间有明显差异, 且具有统计学意义($P<0.05$, 表3)。

对3组进一步作两两比较, 应用拓展的T检验法, (1)A组与B组比较后T值为3.00, $P<0.05$, 两组差别有统计学差异, B组较A组IBS样症状检出人数多; (2)B组与C组比较后T值为3.48, $P<0.05$, 两组差别有统计学差异; C组较B组IBS样症状检出人数多; (3)A组与C组比较后T值为5.40, $P<0.001$, 两组差别有统计学差异; C组较A组IBS样症状检出人数多。

2.3 IBS的危险因素分析

2.3.1 单因素分析: 以IBS样症状为因变量, 将与IBS样症状可能相关的族别(汉族、维吾尔族)、脂肪肝、BMI等11个变量赋值后, 进行单因素logistic回归分析, 结果显示4个变量有统计学意义($P<0.05$, 表4)。

2.3.2 多因素分析: 通过向前逐步引入法, 在校正混杂因素的影响后, 经多因素Logistic回归分析结果显示, IBS样症状与族别、脂肪肝、BMI及甘油三酯4个变量密切相关($P<0.05$), 其危险度由大到小依次为BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别, 具体数值如表5。

表 3 不同程度非酒精性脂肪肝人群中肠易激综合征样症状检出率的比较(n)

分组	肠易激综合征样症状	非肠易激综合征样症状	合计
A组	24	188	212
B组	52	136	188
C组	28	20	48
H值		52.003	
P值		0.000	

表 4 肠易激综合征样症状危险因素单因素分析结果

因素	χ^2 值	OR值	95%CI	P值
族别	7.414	0.288	0.118–0.706	0.006
高脂饮食	0.366	0.794	0.376–1.677	0.545
高血压	3.580	0.225	0.480–1.055	0.058
脂肪肝	4.690	0.475	0.242–0.932	0.03
文化程度	0.013	1.018	0.748–1.386	0.91
年龄	0.422	1.010	0.980–1.042	0.516
体质指数	4.064	0.907	0.824–0.997	0.044
甘油三酯	5.022	0.829	0.704–0.977	0.025
总胆固醇	0.300	1.002	0.978–1.027	0.862
尿酸	0.000	1.000	0.996–1.004	0.987
性别	0.064	0.918	0.472–1.784	0.801

OR: 比值比; 95%CI: 95%置信区间.

表 5 肠易激综合征样症状多因素条件logistic回归分析

因素	χ^2 值	OR值	95%CI	P值
族别	6.927	0.316	0.134–0.745	0.008
脂肪肝	3.947	0.525	0.278–0.991	0.047
BMI	3.877	0.918	0.844–1.000	0.049
甘油三酯	4.493	0.855	0.739–0.988	0.034

OR: 比值比; 95%CI: 95%置信区间.

3 讨论

目前已有许多关于脂肪肝患病状况及相关危险因素 的流行病学报道, 其患病率不断增高, 且不同地区差别较大. 国外学者认为NAFLD有可能成为欧美等发达国家第一大肝病, 并且儿童及青少年NAFLD发病率亦成快速递增趋势, 并有部分可发生肝纤维化, 甚至进展为肝硬化^[7]. 国外研究表明, NAFLD与代谢综合征(metabolic syndrome, MS)密切相关, NAFLD被认为是MS在肝脏的表现, 并且将NAFLD纳入MS的诊断标准中^[8,9]. 同时近年来, 许多研究表明脂代谢紊乱与肠道内菌群有着密切联系, 脂代谢的异常会直接影响肠道菌群的数量及分布, 肠道菌群的

失调常常引发临床上出现功能性胃肠病, 诸如IBS、功能性消化不良等. 因此NAFLD可能与功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)有密切关系, 并且成为FGIDs发生的危险因素. 已有较多学者进行了NAFLD与FGIDs的相关性研究, 而对NAFLD与IBS的研究则较少, 故本研究以NAFLD与IBS的相关性研究为目的进行临床调查研究.

本次研究调查结果显示, 乌鲁木齐市成人IBS样症状人群中65.8%患有NAFLD, 而NAFLD组中23.2%出现IBS样症状, 正常人群中仅有12.5%出现IBS样症状, 随着NAFLD人群中脂肪肝程度的加重IBS样症状检出率亦有所增加, 差

■创新盘点
本文采用单纯随机抽样方法进行大样本研究, 运用医学统计学方法进行分析, 客观的评价NAFLD与IBS样症状的相关性. 同时提出对NAFLD及IBS样症状的临床治疗方法, 这是之前相关研究报道中较少提及的.

■应用要点

本文针对NAFLD与IBS样症状之间的相关性,对两者在临床上的治疗提出观点,对于NAFLD患者进行治疗的同时可给予调节肠道菌群及加强肠道黏膜屏障药物,使肝脏疾病的治疗有更好的疗效。出现IBS样症状的患者在予以调节肠道菌群、促进胃肠动力、胃肠解痉及保护肠道黏膜治疗的同时,可适当给予保肝、调脂等辅助治疗减轻临床上IBS样症状。

■名词解释

代谢综合征(metabolic syndrome, MS):是高血压、血糖异常、血脂紊乱和肥胖症等多种疾病在人体内集结的一种状态,直接导致严重心血管疾病的发生,并造成死亡。功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs):是一组表现为慢性或反复性发作性的胃肠道综合征,临床表现主要是胃肠道的相关症状,因症状特征而有不同命名。常伴有失眠、焦虑、抑郁、等其他功能性症状,需经检查排除器质性疾病方可确诊。

异有统计学意义($P<0.05$),可见NAFLD与IBS样症状是相关联的。多因素logistic回归分析结果显示,BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别(汉族、维吾尔族)是IBS样症状发生的独立危险因素,相对危险度分别为0.918、0.855、0.525及0.316,说明考虑混杂因素的影响后,随着BMI、甘油三酯、脂肪肝的严重程度增加及汉族与维吾尔族间的差异,IBS样症状的发生危险度比正常人有所增加。BMI、甘油三酯、脂肪肝及族别是IBS样症状发生的独立危险因素,进一步说明IBS样症状与脂肪肝密切相关。

根据NAFLD发病过程中肠道的病理生理作用可进一步阐明IBS样症状与脂肪肝的相关性。现有的研究对于NAFLD发病的具体机制并没有定论,“二次打击”学说是被最广泛认可的^[10]。首先,在解剖水平上肠道与肝脏进行直接“交通”,肠道屏障功能完整时,有害物质通常不能进入人体,机体正常循环物质水平的稳态得以维持^[11]。已有研究报道,NAFLD时可削弱肠黏膜屏障功能进一步推动非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发生,肠黏膜屏障损伤的出现,使其通透性增强,促进炎性细胞因子和/或炎性细胞在肝脏聚集,造成肝脏微环境变化,继而诱发或加剧肝脏发生炎症和氧化应激损伤,触发或加剧NASH这一病理过程,肠道黏膜屏障损伤是促进NASH形成时重要的“第二次打击”的门户之一^[12]。其次,NAFLD发生时肝脏微环境的稳态受到炎症、氧化应激及代谢等多个水平的影响^[13],同时IBS亦为一种轻度炎症改变的疾病。较多研究均提示肠道感染为IBS的重要发病诱因。潘国宗等^[14]对肠道急性感染与IBS的关系进行了研究,结果表明肠功能紊乱的发病率随着炎症病程的延长而增加,且发现肠道感染的IBS患者肠黏膜中白介素1(interleukin-1, IL-1)mRNA的表达增高,从而说明炎症及其随后引起的免疫反应可能参与IBS的发病机制。最后,除了以上提及的肠道黏膜屏障、炎症因素对NAFLD及IBS发病有所影响外,肠道菌群亦有着重要作用。近来研究显示,在NAFLD的发病中肠道菌群的失衡起着重要作用,肠道菌群是一个巨大而复杂的微生态系统,是一个有机的整体,对维持人体健康必不可少。正常菌群在宿主营养、免疫和物质代谢吸收等方面起着重要作用,肝脏病变可能破坏肝-肠平衡,引起肠道菌群改变,进而发生腹泻、腹胀、腹痛等为临床表现的IBS样症状^[15]。王玉玲等^[16]经过研

究可推测功能性胃肠病患者体内发生肠道菌群失调,导致大肠内菌群定位转移,致使游离胆汁酸大量滞留在小肠内,影响甘油三酯和脂肪酸的吸收,从而引起不适症状。说明长期功能性胃肠病可使肝功能进一步受损,增加脂肪肝的发病率。本研究结果同现有研究结果相符,显示正常人群和NAFLD中IBS样症状检出率有显著差异,且轻度、中度及重度脂肪肝间IBS样症状的检出率亦有差别。说明NAFLD与IBS密切相关,两者之间存在恶性循环。

目前NAFLD及IBS尚缺乏有效的药物治疗方法,且患者多因临床治疗效果较差而反复就诊。临床上对NAFLD患者通常采用保肝调脂、改变不良生活方式及积极治疗代谢危险因素等治疗方法,但仍有患者存在IBS样症状,通过此次研究结果,我们应考虑NAFLD与IBS样症状有紧密相关性,NAFLD患者可存在IBS样症状,我们可以同时给予调节肠道菌群及加强肠道黏膜屏障药物,使肝脏疾病的治疗有更好的疗效。反之,出现IBS样症状的患者在予以调节肠道菌群、促进胃肠动力、胃肠解痉及保护肠道黏膜治疗的同时,可适当给予保肝、调脂等辅助治疗减轻临床上IBS样症状。或许我们可以通过积极控制及改善NAFLD以减少临床上IBS样症状的发生,同时又可通过对IBS样症状的治疗减轻肝脏的损伤。

4 参考文献

- 1 郑娉娉, 王炳元. 非酒精性脂肪性肝病与酒精性肝病的异同. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 715-717
- 2 陈三妹, 王蓉蓉, 牛三强, 吴亮, 肖艳, 陈丽玲, 陈国荣. 糖尿病非酒精性脂肪肝病大鼠肝组织胰岛素受体、瘦素受体mRNA的表达. 中国病理生理杂志 2009; 25: 1370-1375
- 3 张鸣鸣, 姜敏. 肠易激综合征发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2484-2490
- 4 杨建忠, 黄美丽, 解永军, 贺静芳, 王萍. B超在脂肪肝诊疗中的诊断价值. 中国超声诊断杂志 2003; 4: 190-192
- 5 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性脂肪肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 164-166
- 6 中华医学会消化病学分会胃肠动力学分组. 肠易激综合征诊断和治疗共识意见(长沙, 2009). 中华消化杂志 2008; 28: 38-40
- 7 Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4: 686-693 [PMID: 15084161 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00432.x]
- 8 Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, Miyazaki A. Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol* 2008; 43: 509-518 [PMID: 18648737 DOI: 10.1007/s00535-008-2193-6]
- 9 Boppidi H, Daram SR. Nonalcoholic fatty liver dis-

- ease: hepatic manifestation of obesity and the metabolic syndrome. *Postgrad Med* 2008; 120: E01-E07 [PMID: 18654060 DOI: 10.3810/pgm.2008.07.1800]
- 10 Harmon RC, Tiniakos DG, Argo CK. Inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 189-200 [PMID: 21476914 DOI: 10.1586/egh.11.21]
 - 11 Koek GH, Liedorp PR, Bast A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1297-1305 [PMID: 21514287 DOI: 10.1016/j.cca.2011.04.013]
 - 12 刘玉兰, 李晶. 肠道在非酒精性脂肪性肝病发病中的病理生理作用. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 651-652
 - 13 Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860-867 [PMID: 17167474 DOI: 10.1038/nature05485]
 - 14 潘国宗. 肠易激综合征发病机制研究的进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2004; 13: 333-334
 - 15 Szabo G, Bala S. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1321-1329 [PMID: 20238398 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1321]
 - 16 王玉玲, 聂向荣, 甘兰庄, 吕志红. 蒙脱石散联合双歧杆菌活菌胶囊治疗功能性腹泻60例疗效观察. *河北中医* 2009; 31: 1752-1753

■同行评价

本研究立题有一定新意, 设计合理, 分析方法得当, 结论明确, 具有一定临床参考价值。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}¹, V_{max}不能V_{max}, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨

吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕

■背景资料

肝硬化的营养不良发生率很高, 而营养不良会使体内水分分布发生异常。但分布异常发生的时间、程度尚未明确; 多频生物电阻抗法是检测患者水分分布的一种技术; 本文运用多频生物电阻抗法对肝硬化患者水分分布情况进行评估并从营养的角度分析肝硬化患者水分分布异常的机制。

吴圣楠, 天津医科大学三中心临床学院 天津市 300170
齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 王昕, 天津市第三中心医院营养科 天津市 300170
郝春满, 北京市天坛医院营养科 北京市 100050
吴圣楠, 在读硕士, 主要从事疾病状态下物质代谢的研究。
作者贡献分布: 研究设计由齐玉梅、陈亚军及吴圣楠完成; 资料由肖慧娟、陈亚军、郝春满、王昕及吴圣楠收集整理; 数据统计分析由吴圣楠完成; 本文写作由吴圣楠完成。
通讯作者: 齐玉梅, 教授, 307170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院营养科. qym0305@yahoo.com.cn
电话: 022-84112224
收稿日期: 2013-07-04 修回日期: 2013-09-13
接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-28

Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis

Sheng-Nan Wu, Yu-Mei Qi, Ya-Jun Chen,
Hui-Juan Xiao, Chun-Man Hao, Xin Wang

Sheng-Nan Wu, the Third Central Clinical College of
Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China
Yu-Mei Qi, Ya-Jun Chen, Hui-Juan Xiao, Xin-Wang, De-
partment of Nutrition, the Third Central Hospital of Tianjin,
Tianjin 300170, China
Chun-Man Hao, Nutrition Department, Tiantan Hospital of
Beijing, Beijing 100050, China
Correspondence to: Yu-Mei Qi, Professor, Department of
Nutrition, the Third Central Hospital of Tianjin, 83 Jintang
Road, Hedong District, Tianjin 300170,
China. qym0305@yahoo.com.cn
Received: 2013-07-04 Revised: 2013-09-13
Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate intracellular water (ICW) and extracellular water (ECW) distribution in patients with cirrhosis.

METHODS: One hundred and four cirrhotic patients were divided into three groups based on Child-Pugh class (A, B, C), and 24 healthy volunteers were used as controls (N). Total body water (TBW), ICW and ECW were measured by multi-frequency bioelectrical impedance. ICW% was calculated as $ICW/TBW \times 100\%$, and ECW% as $ECW/TBW \times 100\%$.

RESULTS: Intracellular and extracellular fluid distribution changed in patients with cirrhosis. With the increase in Child-Pugh class, ECW and

ECW% increased and ICW% and ICW/TBW decreased (ECW: 13.011 ± 2.517 L, 14.463 ± 2.720 L, 14.587 ± 2.976 L vs 13.300 ± 2.073 L; ECW%: $38.93\% \pm 1.10\%$, $39.87\% \pm 1.00\%$, $40.52\% \pm 1.32\%$ vs $38.52\% \pm 0.95\%$; ICW%: $61.07\% \pm 1.10\%$, $60.03\% \pm 1.00\%$, $59.48\% \pm 1.32\%$ vs $61.48\% \pm 0.95\%$; ICW/ECW: 1.571 ± 0.072 , 1.510 ± 0.063 , 1.470 ± 0.789 , 1.598 ± 0.065).

CONCLUSION: Intracellular and extracellular fluid distribution has changed at the beginning of the disease in cirrhotic patients, which manifests as increased ECW and ECW% and decreased ICW% and ICW/TBW.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Intracellular; Extracellular; Water distribution; MFBIA

Wu SN, Qi YM, Chen YJ, Xiao HJ, Hao CM, Wang X. Intracellular and extracellular water distribution in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4170-4174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4170>

摘要

目的: 探讨肝硬化患者细胞内外液分布的变化及机制。

方法: 采用多频生物电阻抗法对104例肝硬化患者根据Child-Pugh分级, 分为A、B、C三组, 并选择24例健康者作为对照组(N组), 进行检测, 各组受试者的细胞内液(intracellular water, ICW)、细胞外液(extracellular water, ECW)和身体总水(total body water, TBW), 计算细胞内液/身体总水(ICW/TBW, ICW%)、细胞外液/身体总水(ECW/TBW, ECW%)和细胞外液/细胞内液(ICW/ECW), 比较各组受试者细胞内、外液分布差异。

结果: 肝硬化患者各组间细胞内、外液分布发生变化, ICW%、ICW/ECW随肝功能恶化而降低, ECW随肝功能恶化而增加, ECW%随肝功能恶化而升高。A、B、C、N四组ICW%

■同行评议者

竺亚斌, 研究员, 宁波大学医学院人体解剖与组胚学系

分别为 $61.07\% \pm 1.10\%$ 、 $60.03\% \pm 1.00\%$ 、 $59.48\% \pm 1.32\%$ 、 $61.48\% \pm 0.95\%$, ICW/ECW分别为 1.571 ± 0.072 、 1.510 ± 0.063 、 1.470 ± 0.789 、 1.598 ± 0.065 , ECW分别为 $13.011 \text{ L} \pm 2.517 \text{ L}$ 、 $14.463 \text{ L} \pm 2.720 \text{ L}$ 、 $14.587 \text{ L} \pm 2.976 \text{ L}$ 、 $13.300 \text{ L} \pm 2.073 \text{ L}$, ECW%分别为 $38.93\% \pm 1.10\%$ 、 $39.87\% \pm 1.00\%$ 、 $40.52\% \pm 1.32\%$ 、 $38.52\% \pm 0.95\%$ 。

结论: 在肝硬化初期患者即发生了水分分布异常, 表现为ICW%降低, ECW%升高, ICW/ECW降低, 并随肝功能恶化而加剧。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 细胞内液; 细胞外液; 水分分布; 多频生物电阻抗

核心提示: 肝硬化患者在疾病早期即发生了营养不良、水分分布异常, 也许二者之间存在一定的因果关系, 应关注肝硬化患者的营养状态。

吴圣楠, 齐玉梅, 陈亚军, 肖慧娟, 郝春满, 王昕. 多频生物电阻抗对肝硬化患者细胞内外液的探讨. 世界华人消化杂志 2013; 21(30): 4170–4174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i30.4170>

0 引言

肝硬化患者随着病情发展会出现水分分布异常, 临床表现为水肿、腹水、胸水。然而少量腹水无明显症状和体征^[1], 组织间隙液体增加大于正常值的30%时临床才能观察到^[2]。营养不良的发生率与肝病程度成正相关。蛋白质营养不良的发生率在Child-Pugh A级患者中约占20%, 而C级患者中则超过60%^[3]。早在1987年就有报道, 营养不良会导致水分分布异常, 表现为细胞内液(intracellular water, ICW)减少, 细胞外液(extracellular water, ECW)增多, 且水分分布异常程度与营养不良的程度呈正相关^[4]。但肝功能与细胞内、外液分布关系的报道较少。本研究采用多频生物电阻抗法^[5]对不同Child-Pugh分级肝硬化患者身体总水(total body water, TBW)、ECW、ICW进行检测分析, 探索不同程度肝功能损害患者细胞内外液分布变化的情况, 以指导临床治疗。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-09/2012-09之间肝内科肝硬化住院患者104例作为观察组, 男59例, 女45例, 平

均年龄 58.9 ± 11.31 岁, 所有患者均符合2000年9月中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》对肝硬化的诊断标准^[6]。依据Child-Pugh分级标准将受试者分为A级(A组, $n = 28$)、B级(B组, $n = 46$)、C级(C组, $n = 30$)。选择同期来我院健康体检的24例作为正常对照组N组, 男11例, 女13例, 平均年龄 55.8 ± 9.21 岁。所有受试对象均非肿瘤患者。

1.2 方法

1.2.1 身高、体质量的测量: 身高采用RGZ-120身高体质量计测量, 误差不超过0.1 cm。

1.2.2 身体体质量指数(body mass index, BMI): $BMI = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m}^2)$

1.2.3 细胞内液、细胞外液、身体总水: ICW、ECW、TBW采用InBody 720人体成分分析仪(韩国Biospace公司)检测。

检测原理: 采用多频生物电阻抗法对身体水分进行测量。**检测方法:** 测试对象受检之前2 h禁止进食、饮水、洗澡、剧烈运动, 并排空大小便, 除去电子物品及金属物品。用酒精棉球和电解质湿巾依次擦拭电极。嘱测试对象赤足站立于机器上, 足前掌和足后跟分别接触底部电极, 待机器显示体质量后输入被测者基本资料(年龄、性别、身高), 然后嘱其双手接触手部电极, 双臂向外张开15度, 不与身体接触, 保持1-2 min接受测量。

1.2.4 ICW%、ECW%及ICW/ECW的计算: 将得到的ICW、ECW进行计算, 细胞内液占身体总水百分数 $ICW\% = ICW/TBW \times 100\%$, 细胞外液占身体总水百分数 $ECW\% = ECW/TBW \times 100\%$ 。ICW/ECW即为细胞内液与细胞外液的比值。

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计分析, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本特征 各组受试者年龄、性别、身高、体质量、BMI差异无统计学意义(表1)。

2.2 不同组ICW、ECW、TBW 各组间ICW、TBW差异无统计学意义。B组、C组ECW高于A组、N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2), 对男性、女性分别进行分析, 各组间ICW、ECW、

■研发前沿

多种假说对肝硬化患者水分分布异常的机制进行了阐述, 而从营养的角度对该问题进行分析的研究尚少, 且目前国内对于肝硬化患者水分分布异常的描述较少。

■相关报道

Figueiredo和他的同事们研究表明阐明了肝硬化患者在早期即出现了营养不良, 导致身体成分构成异常。

■创新盘点

本文从营养的角度研究肝硬化患者水分分布异常机制, 相关方面研究尚未见报道。

表 1 各组基本资料比较 (n , mean \pm SD)

性别	分组	n	年龄(岁)	身高(cm)	体质量(kg)	BMI(kg/m ²)
男	A组	14	56.1 \pm 12.8	168.4 \pm 6.99	68.8 \pm 10.91	24.1 \pm 2.64
	B组	21	57.2 \pm 11.3	169.8 \pm 5.52	72.4 \pm 13.81	25.1 \pm 4.02
	C组	16	53.9 \pm 8.23	170.3 \pm 6.19	70.1 \pm 9.90	24.1 \pm 2.80
	N组	11	55.9 \pm 11.7	170.0 \pm 4.73	76.5 \pm 4.57	26.5 \pm 1.84
女	A组	14	61.0 \pm 9.46	157.4 \pm 6.13	59.6 \pm 9.93	23.9 \pm 2.99
	B组	17	66.1 \pm 0.84	158.7 \pm 7.36	64.2 \pm 11.4	25.4 \pm 3.24
	C组	14	57.9 \pm 10.0	157.8 \pm 5.91	59.5 \pm 11.3	23.7 \pm 4.89
	N组	13	57.7 \pm 9.67	158.1 \pm 6.01	62.6 \pm 5.64	24.6 \pm 2.39

A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. BMI: 体质指数.

表 2 各组ICW、ECW、TBW、ICW%、ECW%、ICW/ECW比较 (n , mean \pm SD)

分组	n	ICW(L)	ECW(L)	TBW(L)	ICW(%)	ECW(%)	ICW/ECW
A组	28	20.461 \pm 4.26	13.011 \pm 2.517 ^{ac}	33.471 \pm 6.738	61.07 \pm 1.10 ^{ac}	38.93 \pm 1.10 ^{ac}	1.571 \pm 0.072 ^{ac}
B组	46	21.857 \pm 4.32	14.463 \pm 2.720	36.320 \pm 7.003	60.13 \pm 1.00 ^{ce}	39.87 \pm 1.00 ^{ce}	1.510 \pm 0.063 ^{ce}
C组	30	21.353 \pm 4.06	14.587 \pm 2.976	35.940 \pm 6.975	59.48 \pm 1.32 ^e	40.52 \pm 1.32 ^e	1.470 \pm 0.789 ^e
N组	24	21.304 \pm 3.74	13.300 \pm 2.073	34.604 \pm 5.790	61.48 \pm 0.95	38.52 \pm 0.95	1.598 \pm 0.065

^a $P < 0.05$ vs B组; ^c $P < 0.05$ vs C组; ^e $P < 0.05$ vs N组. A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. ICW: 细胞内液; ECW: 细胞外液; TBW: 身体总水; ICW/ECW: 细胞内液/细胞外液.

表 3 不同性别各组ICW、ECW、TBW比较 (n , mean \pm SD)

性别	分组	n	ICW(L)	ECW(L)	TBW(L)	ICW(%)	ECW(%)	ICW/ECW
男	A组	14	23.35 \pm 3.33	14.78 \pm 1.76	38.14 \pm 5.03	61.15 \pm 1.08 ^{ace}	38.84 \pm 1.07 ^{ace}	1.57 \pm 0.074 ^{ace}
	B组	21	23.72 \pm 3.55	15.61 \pm 2.21	39.33 \pm 5.70	60.25 \pm 1.03 ^{ce}	39.74 \pm 1.03 ^{ce}	1.47 \pm 0.057 ^{ce}
	C组	16	24.00 \pm 2.87	16.33 \pm 2.15	40.33 \pm 4.93	59.54 \pm 1.22 ^e	40.45 \pm 1.22 ^e	1.49 \pm 0.086 ^e
	N组	11	26.67 \pm 2.02	15.12 \pm 1.27	39.78 \pm 3.22	62.03 \pm 0.85	37.95 \pm 0.857	1.57 \pm 0.057
女	A组	14	17.57 \pm 2.94 ^b	11.23 \pm 1.81 ^b	28.81 \pm 4.70 ^b	60.98 \pm 1.15 ^{ac}	39.01 \pm 1.15 ^{ac}	1.57 \pm 0.072 ^{ac}
	B组	17	18.67 \pm 3.65 ^b	12.49 \pm 2.40 ^b	31.17 \pm 6.03 ^b	59.90 \pm 0.93 ^e	40.10 \pm 0.93 ^e	1.51 \pm 0.066 ^e
	C组	14	18.32 \pm 2.97 ^b	12.59 \pm 2.52 ^b	30.92 \pm 5.44 ^b	59.40 \pm 1.46 ^e	40.59 \pm 1.46 ^e	1.47 \pm 0.074 ^e
	N组	13	18.46 \pm 2.09 ^b	11.76 \pm 1.14 ^b	30.22 \pm 3.19 ^b	60.08 \pm 1.30 ^b	38.99 \pm 0.21 ^b	1.63 \pm 0.056 ^b

^a $P < 0.05$ vs 同性别B组; ^c $P < 0.05$ vs 同性别C组; ^e $P < 0.05$ vs 同性别N组; ^b $P < 0.01$ vs M组. A: Child-A组; B: Child-B组; C: Child-C组; N: 对照组. ICW: 细胞内液; ECW: 细胞外液; TBW: 身体总水; ICW/ECW: 细胞内液/细胞外液.

TBW差异无统计学意义(表3).

2.3 不同组ICW%、ECW%、ICW/ECW B组、C组ICW%、ICW/ECW低于A组、N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), ECW%高于A组、N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2).

2.4 不同性别ICW、ECW、TBW、ICW%、ECW%、ICW/ECW 各组男性ICW、ECW、TBW均高于女性, 差异有统计学意义($P < 0.01$, 表3), 正常对照组男性ICW%、ECW%、ICW/ECW均高于女性, 差异有统计学意义($P < 0.01$,

表3), 肝硬化各组男、女ICW%、ECW%、ICW/ECW差异无统计学差异.

分性别分析, 男性A、B、C各组ICW%、ICW/ECW均低于N组, 逐级递减, 差异有统计学意义($P < 0.05$); A、B、C各组ECW%均高于N组, 逐级递增, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 女性B组、C组ICW%、ICW/ECW低于A组、N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); B组、C组ECW%高于A组和N组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

■应用要点

通过检测肝硬化患者的水分分布情况, 可以判断患者的营养状况, 为患者的营养治疗提供依据, 为延缓肝硬化病程进展提供新思路、方法, 对指导临床有一定的意义.

3 讨论

通常男性较女性体形大, 故细胞外液较女性多; 男性体细胞数多于女性, 且肌肉含量较女性多, 肌肉含水量(76%)远大于脂肪的(15%)^[7], 故细胞内液含量较女性多. 本研究中男性细胞内液、细胞外液、身体总水、细胞内、外液占身体总水比例及细胞内液/细胞外液均高于女性, 符合男性、女性水分分布特点. 肝硬化患者各组男性细胞内液、外液、总水均高于女性, 与男性较女性体形大有关, 而细胞内、外液占身体总水比例及细胞内液/细胞外液无性别差异, 因为肝硬化患者水分分布异常, 掩盖了性别对水分分布的影响.

本研究发现, 细胞内液占身体总水的比例随着肝功能恶化逐步下降. 可能的原因一方面是肝硬化患者食欲减退, 摄入的能量和蛋白质长期低于需要量, 致使机体缺乏能量及合成蛋白的原料, 使骨骼肌蛋白分解增加, 以释放出氨基酸作为糖异生及合成蛋白的原料^[8]; 有研究表明^[9]当身体总蛋白质丢失15%时, 其细胞内液将减少15%-20%; 另一方面, 肝硬化患者因疾病消耗、摄入不足等原因, 多数处于营养不良状态, 会导致细胞内蛋白质被分解消耗, 细胞内渗透压降低, 细胞内液外移^[10]; 营养不良还会导致体细胞群减少, 进而导致身体整体的细胞内液减少^[11].

肝硬化患者细胞外液占身体总水比例高于对照组, 且肝功能越差, 细胞外液占身体总水比例越多, 呈逐级递增趋势. 我们发现虽然肝硬化患者早期没有出现腹水、胸水或水肿等临床症状, 但细胞外液占身体总水比例已经升高. 本结论与国外报道一致^[12,13]. 肝硬化患者因肝脏合成能力下降、摄入不足等原因造成蛋白质合成减少, 血浆、细胞内蛋白水平下降, 胶体渗透压降低, 水分由管腔内、细胞内游移到组织间隙并且滞留, 导致细胞外液增多^[14,15]. 由此可见, 肝硬化患者水滞留、营养不良与肝功能三者之间具有相互关系.

细胞内液/细胞外液反映身体水分在细胞内、外分布情况, 细胞内液/细胞外液增加可能是因为细胞内液增加或细胞外液减少, 或者二者同时存在; 细胞内液/细胞外液下降可能是细胞内液减少或细胞外液增多, 或二者并存. 本研究中肝硬化患者细胞内液/细胞外液较对照组减少, 可能是因骨骼肌消耗、瘦体组织减少、细

胞内缺水、过量的水分聚在组织间隙多种原因共同造成的. 细胞内液/细胞外液可以同时反映肝脏功能及营养状况.

总之, 肝硬化患者在疾病初期即发生水分分布异常, 这可能与营养不良有一定关系. 对肝硬化患者进行细胞内外液检测有助于了解患者瘦体组织群、骨骼肌含量及身体储备, 为营养评估、营养诊断、营养治疗提供依据.

4 参考文献

- 1 谢渭芬. 肝硬化腹水的诊断及鉴别诊断. 中华肝脏病杂志 2003; 3: 181-182
- 2 孙芳, 周怡伦, 刘靖, 马丽洁, 韩彬, 沈洋, 崔太根. 多频生物电阻抗法评价血液透析患者体液分布. 中国血液净化 2009; 8: 375-378
- 3 Plauth M, Cabré E, Campillo B, Kondrup J, Marchesini G, Schütz T, Shenkin A, Wendon J. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: hepatology. *Clin Nutr* 2009; 28: 436-444 [PMID: 19520466 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.019]
- 4 Barac-Nieto M, Spurr GB, Lotero H, Maksud MG. Body composition in chronic undernutrition. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 23-40 [PMID: 413427]
- 5 张德平, 刘静民, 郑秀媛. 人体水分测量技术综述. 中国医学物理学杂志 2012; 29: 3184-3187
- 6 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2001; 19: 56-62
- 7 于润江, 朱蕾, 王燕英. 体液代谢的平衡与紊乱. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1-27
- 8 Kotoh K, Nakamuta M, Fukushima M, Matsuzaki C, Enjoji M, Sakai H, Nawata H. High relative fat-free mass is important for maintaining serum albumin levels in patients with compensated liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1356-1360 [PMID: 15761975]
- 9 Finn PJ, Plank LD, Clark MA, Connolly AB, Hill GL. Progressive cellular dehydration and proteolysis in critically ill patients. *Lancet* 1996; 347: 654-656 [PMID: 8596380 DOI: 10.1016/S0140-6736(96)91204-0]
- 10 叶燕明, 黄艳庆. 30例肝硬化腹水合并低钠血症的治疗体会. 医学理论与实践 2008; 21: 1046-1047
- 11 Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Ibi R, Okada T, Mutou M, Shiraishi S, Uchida Y, Otsuka M, Umeki Y, Oriishi T, Hayabuchi H, Tanaka S, Takakura M, Sata M. Body cell mass is a useful parameter for assessing malnutrition and severity of disease in non-ascitic cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma or esophageal varices. *Int J Mol Med* 2008; 22: 589-594 [PMID: 18949378]
- 12 Figueiredo FA, De Mello Perez R, Kondo M. Effect of liver cirrhosis on body composition: evidence of significant depletion even in mild disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 209-216 [PMID: 15683423 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03544.x]
- 13 Figueiredo FA, Perez RM, Freitas MM, Kondo M. Comparison of three methods of nutritional assessment in liver cirrhosis: subjective global assessment, traditional nutritional parameters, and body composition analysis. *J Gastroenterol*

■名词解释

人体成分可分为脂肪组织和瘦体组织, 而瘦体组织主要由肌肉、水分、骨骼组织等构成.

■同行评价

本文探讨肝硬化患者在细胞内外液分布上的变化以及与肝功能恶化程度的关系, 方案设计较合理, 实验结果具有一定的科学意义。

2006; 41: 476-482 [PMID: 16799890 DOI: 10.1007/s00535-006-1794-1]

14 邵茉莉, 刘冰熔. 肝硬化腹水形成机制的研究现状. 世

15 界华人消化杂志 2013; 21: 160-165

刘江华. 肝硬化腹水形成原因及治疗的临床体会. 医学信息 2011; 24: 145-146

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢, 中国医科大学附属盛京医院普通外科 辽宁省沈阳市 110004

李航宇, 副教授, 主要从事以肝胆胰为主的消化系统肿瘤及腹壁疝外科的临床和实验室研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81071955

辽宁省教育厅科技项目计划基金资助项目, No. L2010634

作者贡献分布: 此课题由李航宇与刘金钢设计; 研究过程由李岩完成; 数据分析由杨福全完成; 论文书写由刘丹完成。

通讯作者: 刘金钢, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普通外科. liujg@sj-hospital.org
电话: 024-96615-31611

收稿日期: 2013-08-13 修回日期: 2013-09-17

接受日期: 2013-09-30 在线出版日期: 2013-12-28

Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG2 cells via HIF-1 α

Hang-Yu Li, Fu-Quan Yang, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu

Hang-Yu Li, Fu-Quan Yang, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81071955; and the Scientific Research Foundation of Educational Department of Liaoning Province, No. L2010634

Correspondence to: Jin-Gang Liu, Professor, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liujg@sj-hospital.org

Received: 2013-08-13 Revised: 2013-09-17

Accepted: 2013-09-30 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of extracellular heat shock protein 70 (HSP70)-peptide complexes (HSP70-PCs) on the expression of glucose transporter 1 (Glut1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in HepG2 cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: HepG2 cells were randomly divided into three groups: a control group, an extracellular HSP70 PC (final concentration, 2 μ g/mL) group and an extracellular HSP70/HSP70-PCs + HIF-1 α siRNA group. The expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF was examined by real-time RT-

PCR and Western blot.

RESULTS: Compared with the control group, the expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF was significantly increased in the extracellular HSP70-PC group (all $P < 0.05$), suggesting that extracellular HSP70 PCs promote the expression of HIF-1 α , Glut1 and VEGF in HepG2 cells. SiRNA-mediated blockage of HIF-1 α significantly inhibited the up-regulation of Glut1 and VEGF expression in HepG2 cells (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Extracellular HSP70-PCs promote the expression of Glut1 and VEGF via HIF-1 α in HepG2 cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Extracellular HSP70/HSP70-PCs; Hepatocellular carcinoma; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Glut1; Vascular endothelial growth factor

Li HY, Yang FQ, Li Y, Liu D, Liu JG. Extracellular HSP70 peptide complexes alter expression of Glut1 and VEGF in HepG2 cells via HIF-1 α . *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4175-4179 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4175.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4175>

摘要

目的: 探讨细胞外的热休克蛋白70及HSP70肽复合物(heat shock protein 70/peptide complexes, HSP70/HSP70-PCs)对肝癌细胞HepG2缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, Glut1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响及可能机制。

方法: 将肝癌细胞分为3组: 正常对照组、细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组(终浓度2 μ g/mL)、细胞外HSP70/HSP70-PCs+siRNA转染组。应用Real-time RT-PCR与Western blot法检测HIF-1 α 、Glut1和VEGF的表达变化。

■背景资料

肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 占全世界癌症死亡原因的第三位, 我国是世界上肝癌发病率最高的国家。热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)在细胞中广泛表达, 他可以参与肿瘤细胞内的多种信号转导通路的调节。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用, 还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外, 释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物不仅能够调控肿瘤的免疫反应, 还参与调控肿瘤的多种生物学行为, 因此研究细胞外HSP70/HSP70PCs如何调控肝细胞癌中相关信号转导通路对于降低患者死亡率至关重要, 并为肝癌的治疗提供了新的理论和实验依据。

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

■研发前沿

肝细胞癌的发生发展过程非常复杂,细胞外HSP70/HSP70PCs对肝癌的影响机制日益引起人们的关注,对于细胞外HSP70/HSP70PCs如何调控肝癌的发展是目前研究的热点问题。

结果: 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达显著升高,与对照组相比有显著差异($P<0.05$),表明细胞外HSP70/HSP70-PCs促进肝癌细胞的HIF-1 α 、Glut1和VEGF表达;应用siRNA阻断HIF-1 α 后,细胞外HSP70/HSP70-PCs对Glut1和VEGF的上调表达作用消失,与对照组相比有明显差异($P<0.05$)。

结论: 细胞外HSP70/HSP70-PCs可以上调肝癌细胞HepG2中Glut1和VEGF表达,并且这一作用是通过HIF-1 α 来实现的。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 细胞外HSP70/HSP70-PCs; 肝癌细胞; 缺氧诱导因子1 α ; 葡萄糖转运蛋白1; 血管内皮生长因子

核心提示: 本研究证实细胞外热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)/HSP70肽复合物(HSP70-peptide complexes, HSP70-PCs)能够通过缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α)促进Glut1与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)的表达,这对肝癌的侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值。如果能够抑制HSP70/HSP70-PCs释放到肝癌微环境中,就有可能阻碍肝癌细胞的能量代谢过程,阻止癌细胞的侵袭和转移,这为临床上肝癌的治疗提供了新的思路。

李航宇, 杨福全, 李岩, 刘丹, 刘金钢. 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 影响肝癌细胞HepG2 Glut1与VEGF的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4175-4179 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4175.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4175>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,占全世界癌症死亡原因的第3位^[1]。我国是世界上肝癌发病率最高的国家,肝癌占癌症死亡原因的第2位,死亡率约26.26/10万人^[2]。热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70),在细胞中广泛表达。他在肿瘤中可以作为肽的运载工具,发挥“分子伴侣”的作用,也可以参与肿瘤细胞内的信号调节^[3]。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用,还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外^[4]。研究发现,释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物(HSP70-peptide complexes, HSP70-PCs)不仅能够调控肿瘤的免疫反应,还参与调控肿瘤的

多种生物学行为^[5]。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)在肿瘤中普遍表达,介导肿瘤细胞适应缺氧微环境,参与调控肿瘤的多种生物学行为,包括增殖、凋亡、侵袭等^[6]。Wu等^[7]的研究表明,在喉癌中HIF-1 α 与葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, Glut1)的表达明显相关。Skinner等^[8]研究并阐述了HIF-1 α 能够调节VEGF的转录活性。Glut1是人类葡萄糖跨膜转运最主要的载体,与细胞葡萄糖转运和能量代谢关系密切,恶性肿瘤细胞对葡萄糖的摄取及代谢均处于增高状态,研究表明Glut1及其基因的异常高表达与肿瘤细胞的高能量代谢状态密切相关^[9]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通过参与肿瘤新生血管的形成也能调控肿瘤的能量代谢^[10]。我们的前期研究发现,肿瘤微环境中的HSP70/HSP70PCs能够上调HIF-1 α 的表达。那么,微环境中的HSP70/HSP70-PCs是否通过调控HIF-1 α 的表达影响Glut1与VEGF进而对肿瘤的能量代谢产生影响值得研究。

本实验拟观察在肝癌细胞HepG2中,细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制,为进一步治疗肝癌提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所;小鼠抗人HIF-1 α 单克隆抗体购博士的生物技术有限公司;VEGF购自Santa Cruze公司;鼠抗人多克隆GAPDH抗体购自Sigma公司;HRP标记的羊抗鼠、羊抗兔二抗购自武汉博士德公司;逆转录试剂盒与PCR试剂盒购自Promega公司;TRIzol Reagent购自美国Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 细胞分成3组: 正常对照组、细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组(终浓度10 μ g/mL)、细胞外HSP70/HSP70-PCs+siRNA转染组。细胞以含100 mL/L胎牛血清的高糖DMEM培养基,于37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO₂培养箱中培养,胰酶消化、传代,取对数生长期细胞实验。

1.2.2 细胞外HSP70/HSP70-PCs的构建: GST-HSP70融合蛋白购自Sigma公司,采用Blachere等^[11]的方法进行抗原肽和GST-HSP70体外结合。反应体系含1 mmol/L ADP、1mmol/L MgCl₂、75 μ g/mL 抗原肽、250 μ g/mL GST-HSP70, 37 $^{\circ}$ C水浴2 h。

■相关报道

HSP70在细胞中广泛表达,他可以参与多种肿瘤细胞内的信号调节。HSP70不仅在细胞内发挥重要作用,还能被多种肿瘤细胞释放到细胞外。研究发现,释放到肿瘤微环境中的HSP70及HSP70肽复合物不仅能够调控肿瘤的免疫反应,还参与调控肿瘤的多种生物学行为。

表 1 Real-time RT-PCR引物序列

引物名称	引物序列
HIF-1 α	F: 5'-CTTCTGGATGCTGGTG-3' R: 5'-TCGGCTAGTTAGGGTAC-3'
Glut1	F: 5'-GGTGTGTCATCACTCATGACC-3' R: 5'-CAGATAGGACATCCAGGGTAGC-3'
VEGF	F: 5'-AGGAGGAGGGCAGAATC-3' R: 5'-ATGTGCTGGCCTTGGT-3'
GAPDH	F: 5'-GGATTTGGTCGTATTGGG-3' R: 5'-TCGCTCCTGGAAGATGG-3'

HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.2.3 Western blot检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白的表达: 提取细胞总蛋白, BCA法测定各组蛋白浓度。根据浓度上样行电泳后, 转膜至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉的TBST封闭1 h, 加一抗(HIF-1 α 1:500、VEGF 1:500、Glut1 1:500、GAPDH 1:5000), 4 $^{\circ}$ C杂交过夜, TBST漂洗, 加二抗(1:5000)室温孵育2 h, TBST漂洗, 化学发光试剂检测蛋白条带, 测定各条带积分吸光度(A)值, 定量分析。

1.2.4 Real-time RT-PCR检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA的表达: 细胞外HSP70/HSP70-PCs刺激24 h后, 分别收集各组细胞, 采用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 紫外分光光度计测定A_{260/280}为1.75-1.95。取2 μ g RNA, 应用逆转录试剂盒按20 μ L逆转录体系合成cDNA。PCR引物由应用软件Primer5.0设计(表1), 由北京鼎国合成。荧光定量PCR反应体系为25 μ L, 内含500 ng cDNA模板, 终浓度为250 nmol/L的上下游引物及SYBR Green Real-time PCR Master Mix 12.5 μ L。反应条件为95 $^{\circ}$ C 60 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 退火15 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 荧光收集, 40个循环。每个样本重复3次。以相对CT值(即 $2^{-\Delta\Delta Ct}$)表示目的基因的相对表达量, 以空白细胞为对照。

1.2.5 针对HIF-1 α 特异性siRNA转染: 接种适量细胞至六孔板, 确保第2天细胞约30%铺满, 采用Lipofectamine 2000转染, 6 h后更换新鲜培养基, 48 h检测蛋白水平的变化。siRNA靶向HIF-1 α 的序列是siRNA上链序列是5'-GT-GAAAGGATTCATATCTA-3', 下链序列是3'-GACACAGCCTCGATATGAA-5'。

统计学处理 所有实验均重复3次以上, 用SPSS13.0软件进行统计分析, 定量结果采用

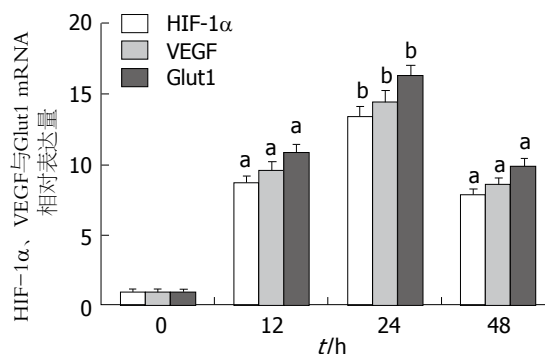


图 1 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导细胞不同时间, Real-time RT-PCR检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA表达的变化。* P <0.05, ^b P <0.01 vs 对照组。HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子。

mean \pm SD表示, 多组均数间比较采用单因素方差分析, 两两组间比较采用组间 t 检验, 以 P <0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞外HSP70/HSP70-PCs促进肝癌细胞系HepG2细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1表达 Real-time RT-PCR检测各组细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA的表达(图1), 结果显示: 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1 mRNA表达显著升高, 与对照组相比有显著差异(P <0.05)。通过Western blot检测各组细胞HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白的表达(图2), 结果与Real-time RT-PCR结果一致, 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导实验组HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达显著升高, 与对照组相比有显著差异(P <0.05)。

2.2 细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 调控肝癌细胞HepG2中VEGF与Glut1蛋白表达 我们通过siRNA阻断HIF-1 α 的表达验证细胞外HSP70/HSP70-PCs通过HIF-1 α 调控肝癌细胞HepG2中VEGF与Glut1蛋白表达。如图3A所示: 特异性siRNA能够有效阻断HIF-1 α mRNA与蛋白的表达。图3B, C显示, 经过siRNA预处理肝癌细胞HepG2细胞24 h后, 在细胞外HSP70/HSP70-PCs的作用下, VEGF与Glut1蛋白表达显著降低, 与对照组相比有明显差异(P <0.05)。

3 讨论

HSP70是在生物体内普遍存在的蛋白质家族, 根据分布位置不同分为细胞内HSP70与细胞外HSP70。人们对细胞内HSP70的作用了解比较清楚, 生理状态下作为分子伴侣参与蛋白的折

■创新盘点

本实验应用HSP70/HSP70PCs对肝癌细胞HepG2进行体外干预, 探讨细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制, 旨在为将来组织水平研究肝癌的发生发展提供理论基础, 并为肝癌的治疗打开一个新的思路。截至目前, 细胞外HSP70/HSP70PCs在肝癌中的研究鲜见报道。

■应用要点

本研究结果表明细胞外HSP70/HSP70PCs可以上调肝癌细胞HepG2中Glut1和VEGF表达, 并且这一作用是通过HIF-1 α 来实现的。这为肝癌的治疗提供理论基础。

■名词解释

热休克蛋白70: 在细胞中广泛表达。他在肿瘤中可以作为肽的运载工具, 发挥“分子伴侣”的作用, 也可以参与肿瘤细胞内的信号调节; 缺氧诱导因子-1 α : 在肿瘤中普遍表达, 介导肿瘤细胞适应缺氧微环境, 参与调控肿瘤的多种生物学行为, 包括增殖、凋亡、侵袭等; GLUT-1: 人类葡萄糖跨膜转运最主要的载体, 与细胞葡萄糖转运和能量代谢关系密切, GLUT-1及其基因的异常高表达与肿瘤细胞的高能量代谢状态密切相关。

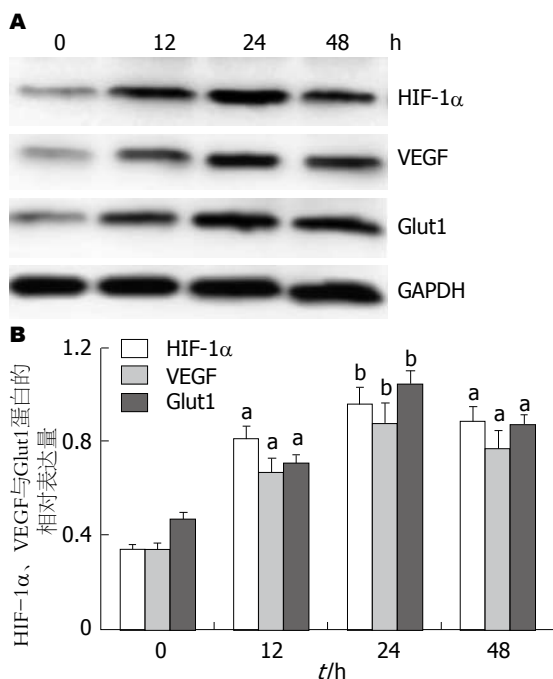


图2 细胞外HSP70/HSP70-PCs诱导细胞不同时间, Western blot检测HIF-1 α 、VEGF与Glut1蛋白表达的变化。* $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 0 h. HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

叠、构象、修复以及跨膜转运; 应激时呈高表达, 起到应激保护作用。Mambula等^[12]研究发现HSP70不仅存在于细胞内, 还能释放到肿瘤微环境中。Sims等^[13]研究表明, 细胞外存在的HSP70参与肿瘤的侵袭转移。

肿瘤细胞新陈代谢速度快, 繁殖能力强等特点决定了肿瘤对于氧气、葡萄糖等能量物质的需求要远高于正常细胞。同时, 肿瘤细胞体积的不断增加, 致使肿瘤细胞远离了营养丰富的血管, 进一步导致了肿瘤微环境的缺氧情况。在缺氧条件下, HIF-1相关的基因被诱导^[14]。HIF-1由 α 和 β 亚基组成, 其中HIF-1 α 是受氧分子调节的主要功能亚基。有研究发现, HIF-1是下游基因Glut1的重要调控因子, 对糖代谢有明显影响^[15]。活化的HIF-1与Glut1 5'端的增强子DNA的结合位点结合, 诱导Glut1过度表达^[16]。HIF-1 α 也能够上调VEGF的转录活性, 促进VEGF的表达, 调节新生血管的生成, 为肿瘤的代谢提供营养^[17]。通过Real-time RT-PCR与Western blot检测发现, 细胞外HSP70/HSP70-PCs能够上调HIF-1 α mRNA与蛋白的表达, 同时伴随Glut1与VEGF mRNA与蛋白的表达上调。通过siRNA技术阻断HIF-1 α 的表达发现, 阻断HIF-1 α 的表达能够有效抑制细胞外HSP70/HSP70-PCs对Glut1与VEGF的上调作用。该结果提示, 细胞外HSP70/HSP70-PCs

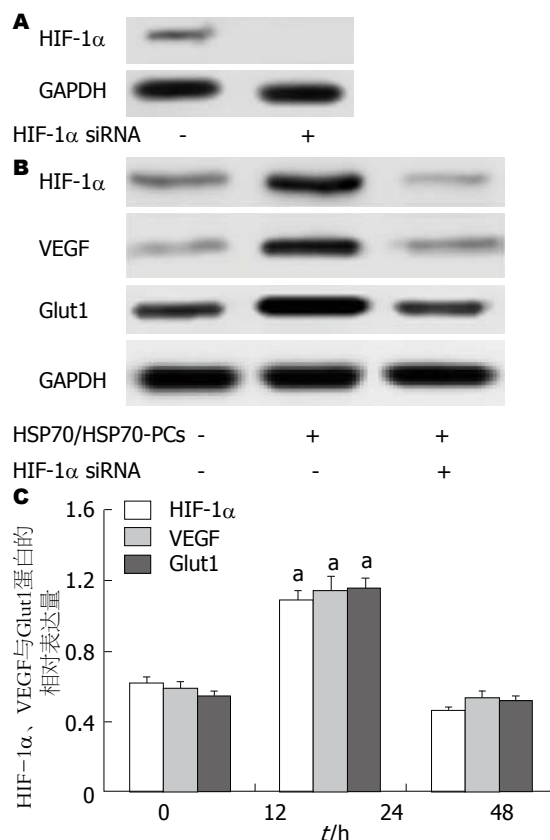


图3 HIF-1 α siRNA后细胞外HSP70/HSP70-PCs对VEGF与Glut1蛋白表达的影响。A: 应用siRNA阻断HIF-1 α 的表达; B, C: Western blot检测阻断HIF-1 α 后VEGF与Glut1蛋白表达的变化。* $P<0.05$ vs 对照组。HIF-1 α : 缺氧诱导因子1 α ; Glut1: 葡萄糖转运蛋白1; VEGF: 血管内皮生长因子; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; HSP70/HSP70-PCs: 热休克蛋白70及HSP70肽复合物。

是通过HIF-1 α 调控Glut1与VEGF的表达。

总之, 细胞外HSP70/HSP70-PCs能够促进Glut1与VEGF的表达, 这种作用是通过HIF-1 α 途径来实现的。本研究结果为肝癌的治疗提供了新的理论和实验依据。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer]
- Duffy DJ, Millane RC, Frank U. A heat shock protein and Wnt signaling crosstalk during axial patterning and stem cell proliferation. *Dev Biol* 2012; 362: 271-281 [PMID: 22155526 DOI: 10.1016/j.ydbio]
- Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 15-27 [PMID: 16931602 DOI: 10.1189/jlb.0306167]
- Wu FH, Yuan Y, Li D, Liao SJ, Yan B, Wei JJ, Zhou YH, Zhu JH, Zhang GM, Feng ZH. Extracellular

- HSPA1A promotes the growth of hepatocarcinoma by augmenting tumor cell proliferation and apoptosis-resistance. *Cancer Lett* 2012; 317: 157-164 [PMID: 22115967 DOI: 10.1016/j.canlet]
- 6 李姗姗, 姚登福, 董志珍. 肝缺氧诱导因子-1 α 与肝癌发生、发展及治疗研究新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 361-367
- 7 Wu XH, Chen SP, Mao JY, Ji XX, Yao HT, Zhou SH. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 α and glucose transporter-1 in laryngeal carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 5: 261-266 [PMID: 23255932 DOI: 10.3892/ol.2012.941]
- 8 Skinner HD, Zheng JZ, Fang J, Agani F, Jiang BH. Vascular endothelial growth factor transcriptional activation is mediated by hypoxia-inducible factor 1 α , HDM2, and p70S6K1 in response to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling. *J Biol Chem* 2004; 279: 45643-45651 [PMID: 15337760]
- 9 Kunkel M, Reichert TE, Benz P, Lehr HA, Jeong JH, Wieand S, Bartenstein P, Wagner W, Whiteside TL. Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 1015-1024 [PMID: 12569601 DOI: 10.1002/cncr.11159]
- 10 Finley SD, Popel AS. Effect of tumor microenvironment on tumor VEGF during anti-VEGF treatment: systems biology predictions. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105: 802-811 [PMID: 23670728 DOI: 10.1093/jnci/djt093]
- 11 Blachere NE, Li Z, Chandawarkar RY, Suto R, Jai-karia NS, Basu S, Udono H, Srivastava PK. Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity. *J Exp Med* 1997; 186: 1315-1322 [PMID: 9334371]
- 12 Mambula SS, Calderwood SK. Heat shock protein 70 is secreted from tumor cells by a nonclassical pathway involving lysosomal endosomes. *J Immunol* 2006; 177: 7849-7857 [PMID: 17114456]
- 13 Sims JD, McCready J, Jay DG. Extracellular heat shock protein (Hsp)70 and Hsp90 α assist in matrix metalloproteinase-2 activation and breast cancer cell migration and invasion. *PLoS One* 2011; 6: e18848 [PMID: 21533148 DOI: 10.1371/journal.pone.0018848]
- 14 Rankin EB, Wu C, Khatir R, Wilson TL, Andersen R, Araldi E, Rankin AL, Yuan J, Kuo CJ, Schipani E, Giaccia AJ. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO. *Cell* 2012; 149: 63-74 [PMID: 22464323 DOI: 10.1016/j.cell.2012.01.051]
- 15 Marx J. Cell biology. How cells endure low oxygen. *Science* 2004; 303: 1454-1456 [PMID: 15001751 DOI: 10.1126/science.303.5663.1454]
- 16 Hayashi M, Sakata M, Takeda T, Yamamoto T, Okamoto Y, Sawada K, Kimura A, Minekawa R, Tahara M, Tasaka K, Murata Y. Induction of glucose transporter 1 expression through hypoxia-inducible factor 1 α under hypoxic conditions in trophoblast-derived cells. *J Endocrinol* 2004; 183: 145-154 [PMID: 15525582 DOI: 10.1677/joe.1.05599]
- 17 Na YR, Han KC, Park H, Yang EG. Menadione and ethacrynic acid inhibit the hypoxia-inducible factor (HIF) pathway by disrupting HIF-1 α interaction with p300. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 434: 879-884 [PMID: 23618863 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.044]

同行评价

本实验应用HSP70/HSP70PCs对肝癌细胞HepG2进行体外干预, 探讨细胞外HSP70/HSP70PCs对HIF-1 α 调控Glut1与VEGF表达的影响及其可能机制. 为肝癌的治疗提供了理论基础. 论文选题新颖, 设计合理, 论据充分.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价

应 勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何 晓

■背景资料

消化系出血是临床上常见的急诊病症, 目前数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)技术已成为胃肠道出血重要的诊断及治疗手段, 其阳性率往往可以达到50%-94%。但是, 临床上仍有数量相当的患者在经DSA检查后未能发现出血病灶, 而在检查后反复出血。特别是在出血间歇期造影的阳性率更低。

应勇, 张文红, 王小农, 何晓, 赣南医学院第一附属医院普外科 江西省赣州市 510080

罗家芳, 赣南医学院第三附属医院普外科 江西省赣州市 510080

应勇, 副主任医师, 主要从事胃肠病外科治疗的研究。

江西省卫生厅课题基金资助项目, No. 20141108

作者贡献分布: 此课题由应勇设计; 研究过程由应勇与罗家芳实施完成; 数据分析及影像支持由张文红、王小农及应勇完成; 本论文写作由应勇、张文红、王小农及罗家芳共同完成; 何晓指导及审阅文章。

通讯作者: 何晓, 主任医师, 510080, 江西省赣州市青年路23号, 江西省赣南医学院第一附属医院普外科。

hexiaogxz@163.com

收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-09-30

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2013-12-28

Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients

Yong Ying, Jia-Fang Luo, Wen-Hong Zhang, Xiao-Nong Wang, Xiao He

Yong Ying, Wen-Hong Zhang, Xiao-Nong Wang, Xiao He, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China

Jia-Fang Luo, Department of General Surgery, the Third Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Health Department of Jiangxi Province. No. 20141108

Correspondence to: Xiao He, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, 23 Qingnian Road, Ganzhou 510080, Jiangxi Province, China. hexiaogxz@163.com

Received: 2013-08-07 Revised: 2013-09-30

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the effects of prophylactic gastroduodenal artery embolization and/or prophylactic mesenteric artery catheter infusion of vasopressin in digital subtraction angiography (DSA)-negative gastrointestinal bleeding patients.

METHODS: One hundred subjects recruited at our hospital from May 2012 to June 2013 with

negative DSA examination results were randomly divided into three groups to receive preventive embolization and vasopressin therapy, embolization alone, and conservative treatment. Therapeutic effects and adverse events were compared between the three groups.

RESULTS: The success rate was greater in the preventive embolization and vasopressin treatment group (91.2%) than in the embolization alone group (81.8%) and the conservative treatment group (57.6%), and the difference between the combination group and conservative treatment group was statistically significant ($P < 0.05$). Adverse reactions were rare in patients of each group, and the combination group had a relatively low incidence (5.9%).

CONCLUSION: Preventive gastroduodenal artery embolization and/or prophylactic mesenteric artery catheter infusion of vasopressin have important therapeutic value in DSA negative gastrointestinal bleeding patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal bleeding; Digital subtraction angiography; Embolization; Vasopressin

Ying Y, Luo JF, Zhang WH, Wang XN, He X. Effects of vasopressin infusion aided prophylactic gastroduodenal artery embolization in DSA-negative gastrointestinal bleeding patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4180-4184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4180.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4180>

摘要

目的: 探讨预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素在数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查阴性胃肠道出血患者治疗中的应用价值。

方法: 将2010-05/2013-06在我院行DSA检查阴性胃肠道出血患者100例随机分为3组, 分别进

■同行评议者

陈贻胜, 教授, 福建省立医院; 姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

行预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗、介入栓塞治疗和内科保守治疗, 观察比较其治疗效果及不良反应发生情况。

结果: 预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗组治疗成功率(91.2%)高于单纯介入栓塞治疗组及内科保守治疗组(57.6%), 且与内科保守治疗组相比差异有统计学意义。各组患者不良反应均较少, 仅预防性介入栓塞和垂体后叶素治疗组麻痹性肠梗阻有较低的发生倾向(本研究中发生率为5.9%)。

结论: 预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素在DSA检查阴性胃肠道出血患者中有重要的治疗价值。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道出血; 数字减影血管造影; 介入栓塞; 垂体后叶素

核心提示: 本研究对数字减影血管造影(digital subtraction angiography)阴性患者行预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素, 临床止血率较高, 注药期间部分出现腹痛、高血压症状, 给予暂时停药后, 腹痛症状均获缓解, 同时给予硝酸甘油静滴, 以控制血压, 因此出现心动过缓、心率失常等不良反应极少。

应勇, 罗家芳, 张文红, 王小农, 何晓. 联合介入应用于DSA阴性胃肠道出血患者的效果评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4180-4184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4180.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4180>

0 引言

消化系出血是临床上常见的急诊病症, 目前数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)技术已成为胃肠道出血重要的诊断及治疗手段^[1-3], 其阳性率往往可以达到50%-94%^[4]。但是, 临床上仍有数量相当的患者在经DSA检查后未能发现出血病灶, 而在检查后反复出血。特别是在出血间歇期造影的阳性率更低^[5]。

经DSA检查呈阴性的胃肠道出血患者, 仍有进行介入栓塞治疗以及垂体后叶素治疗的必要性, 有文献指出^[6], 胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚密切相关, 拖延时间过久可能会直接影响止血效果。并且, 过长时间且无效的内科保守治疗可能会增加介入栓塞治疗的危险性。

因此, 本文将对预防性胃十二指肠动脉栓塞和/或预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素

在DSA检查阴性胃肠道出血患者治疗中的应用价值进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 2010-05/2013-06在我院行DSA检查阴性胃肠道出血患者100例。研究对象需满足, 因“呕血和/或解黑便”等主诉入院, 经胃镜检查排除食道胃底曲张静脉破裂出血, 给予内科保守治疗3-5 d后, 出血症状仍无明显改善, 血色素进行性下降的愿意参加本次研究的患者。将纳入的患者随机分为3组, 最终100例患者中, 预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组34例, 预防性栓塞组33例, 阴性对照组(内科保守治疗)33例。

1.2 方法 对于预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组, 采用Seldinger技术, 选用5F RH肝管。选择性腹腔动脉造影, 必要时分别超选至肝固有动脉、胃十二指肠动脉及胃左动脉造影, 常规肠系膜上、下动脉造影。以明胶海绵颗粒及弹簧圈栓塞止血, 术后将5 F RH肝管留置于肠系膜上动脉开口处, 经微量泵泵入垂体后叶素, 速度为0.1-0.2 U/min, 持续4-8 h, 留置导管3 d。预防性栓塞组处理类似, 但不留置肝管, 不泵入垂体后叶素。阴性对照组, 采用常规内科保守方式治疗。

统计学处理 使用SPSS16.0进行数据录入和统计分析。基线比较, 使用方差分析比较实验组特征均衡性。结果分析主要分析方法为Kruskal-Wallis *H*检验, 使用*H*检验对不同治疗组间治疗效果进行比较, 若检验出差异, 则对3组进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者特征 本次研究纳入的100例患者中, 以男性居多, 占75.0%, 平均年龄51.7岁, 身体质量指数BMI平均为24.7 kg/m²。3组间差异没有统计学意义, 提示该分组均衡可比(表1)。患者均经DSA诊断胃肠道出血阴性(图1A)。治疗措施胃十二指肠动脉栓塞如图1B所示。

2.2 不同组别治疗结果比较 以完全止血、止血不彻底、复发三级指标来评价不同处理组别的治疗结果, 如表2所示, 经Kruskal-Wallis *H*检验, 3组间 $P = 0.004$, 差异具有显著的统计学意义, 其中, 预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组高于预防性栓塞组, 预防性栓塞组高于内科保守治疗组。校正 α 后进行两两比较,

■ 研发前沿

经DSA检查呈阴性的胃肠道出血患者, 仍有进行介入栓塞治疗以及垂体后叶素治疗的必要性, 有文献指出, 胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚密切相关, 拖延时间过久可能会直接影响止血效果。并且, 过长时间且无效的内科保守治疗可能会增加介入栓塞治疗的危险性。

■相关报道

有文献指出胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚有关,拖延介入治疗的实施时间会直接影响导管止血的疗效。

表 1 不同分组基本特征比较

特征指标	预防性栓塞+血管加压素	预防性栓塞	内科保守治疗	P值
年龄(岁)	52.1 ± 8.1	53.3 ± 7.6	49.8 ± 7.4	>0.05
性别(男女比例, %)	76.5	75.8	72.7	>0.05
体质量指数(kg/m ²)	24.8 ± 0.3	24.6 ± 0.3	24.7 ± 0.3	>0.05

表 2 不同处理阴性消化系出血患者治疗结果(n)

分组 类型	n	治疗结果 ¹		
		完全止血	止血不彻底	复发
预防性栓塞+血管加压素	34	31	2	1
预防性栓塞	33	27	4	2
内科保守治疗	33	19	9	5
合计	100	77	15	8

¹进行Kruskal-Wallis H检验, 3组间 $P = 0.004$ 。以 $\alpha = 0.017$ 为界值进行组间两两比较, 预防性栓塞+血管加压素与内科保守治疗间 $P = 0.002 < 0.017$ 。

表 3 阴性胃肠道出血患者治疗后不良反应发生情况 n(%)

分组 类型	n	不良反应			
		肠梗阻	肠管坏死	心动过缓	心率失常
预防性栓塞+血管加压素	34	2(5.9)	0(0.0)	1(2.9)	0(0.0)
预防性栓塞	33	0(0.0)	0(0.0)	1(3.0)	0(0.0)
内科保守治疗	33	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组与内科保守治疗组间差异具有统计学意义。

2.3 不同组别不良反应发生情况比较 消化系栓塞止血最严重的并发症是节段性肠缺血坏死, 其次为肠梗阻。介入栓塞合并垂体后叶素之后, 肠梗阻发生的可能性增加。单独使用垂体后叶素的患者, 如果有心血管系统的基础疾病, 也易于发生心动过缓、心率失常等不良反应。本研究中针对这些不良反应的发生进行剂量的调整和前瞻性控制, 使得不良反应发生率较低(表3)。

3 结论

近年来由于数字减影技术的广泛开展, 用导管治疗消化系出血已经取得了广泛的应用。DSA已成为不明原因消化道出血尤其是动脉性大出血的首选诊治方案^[1-3]。但是, DSA在不明原因消化系出血的诊治中也存在缺陷, 特别是目前检查的阳性率偏低。Rollins等^[5]曾报道36例消化系出血患者的DSA检查, 其中16例明确诊断, 阳性

率为44%。而在出血间歇期造影则阳性率更低。DSA阴性可能和以下因素有关: (1)出血间歇期造影。临床经验证明, 血管造影所能显示的出血速度须要在1.0-1.5 mL/min以上^[7], 而出血间歇期时胃肠道出血量小, 出血速度往往低于1.0-1.5 mL/min或出血停止, 因而选择性动脉造影检出阳性率可以降低到25%-50%^[8,9]; (2)不明原因的消化系出血DSA阴性患者往往以血管畸形、血管瘤、消化道溃疡、憩室病变居多^[10], 此类病变所导致的胃肠道出血通常在血管造影时特征性改变较少或无明显特征性改变。

介入栓塞因其良好的治疗效果, 已经成为上消化道出血的首选治疗方法^[11], 其治疗机制包括降低出血部位动脉灌注压力、诱导局部血管痉挛、局部血凝块形成等。上消化道出血动脉包括肝动脉及其分支、胃左动脉、胃十二指肠动脉、胃网膜动脉等, 其相互之间有丰富的侧支循环, 行栓塞治疗术时通常不存在组织坏死的危险。对上消化道出血的患者, 即使DSA检查血管造影无阳性发现, 也可根据内镜检查提示的出血部位对应区域的供血动脉进行介入栓



图1 胃肠道出血阴性患者介入栓塞影像示例. A: DSA诊断胃肠道出血阴性示例; B: 胃十二指肠动脉栓塞示例.

塞,以减少局部血流、降低血管内压力,从而诱导自体凝血机制发挥作用,最终达到止血目的.下消化道动脉较细,末梢侧枝循环不丰富,若未发现血管异常征象,不提倡预防性或经验性栓塞,以免导致肠缺血和梗塞.

经动脉灌注血管加压素是消化系出血的另外一种重要的介入治疗方法^[12].其机制是,血管加压素可以大范围收缩小动脉等血管床,减低局部血流量及血流流速,从而达到止血目的^[13].这一治疗方式尤其对血管畸形、胃肠道浅表溃疡及广泛细小的出血灶有明确的治疗效果,文献报道血管加压素灌注的方式治疗下消化道出血的有效率在80%-90%^[14].然而,血管加压素在应用过程中经常会出现痉挛性腹痛、恶心、头昏或一过性高血压的症状.本研究对DSA阴性患者行预防性肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素,临床止血率较高,注药期间部分出现腹痛、高血压症状,给予暂时停药后,腹痛症状均获缓解,同时给予硝酸甘油静滴,以控制血压,因此出现心动过缓、心率失常等不良反应极少.

本研究的联合介入治疗包括经导管动脉内垂体后叶素灌注治疗和栓塞治疗.一项研究报告^[15],19例中3例行药物灌注暂时止血后,再行栓塞治疗,因为药物灌注治疗可以很好的控制较小血管出血并降低出血速度,最终获得良好的治疗效果,而栓塞治疗起效较快并且止血效

果较为持久^[16].联合介入在临床上应当尽早实施,有文献^[17]指出胃肠道出血的生存率与介入治疗时间的早晚有关,拖延介入治疗的实施时间会直接影响导管止血的疗效.过长时间且效果不佳的内科保守治疗可能会增加介入栓塞的危险性.

在本研究中,预防性栓塞联合肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素组的DSA诊断阴性患者中,仅有2例止血不彻底,1例复发,效果明显优于对照组.部分患者栓塞治疗后出现程度不同的腹痛症状,持续1-3 d,应该与栓塞后组织缺血反应有关,但不久后腹痛均自行缓解.预防性栓塞联合血管加压素组有较高的治愈率,但有较高的肠梗阻发生的可能性,陈克敏等^[12]也曾对栓塞治疗联合血管加压素治疗中易于发生肠梗阻的现象做过相关报道.在应用预防性栓塞联合血管加压素治疗时应予以注意,并将预后的可能性详尽地告知患者,由患者对治疗措施进行知情选择.为避免或减少肠缺血坏死的发生,在栓塞治疗中,应采用小剂量、大颗粒的栓塞方式进行栓塞治疗.

由于因胃肠道出血入院的患者中存在相当比例的DSA阴性患者,尽管阴性患者较多伴随较轻出血症状,有可能会出现过度治疗的情况.但综合考虑,为提高临床成功率,挽救更多患者的生命,我们认为胃十二指肠动脉预防性栓塞和/或肠系膜上动脉置管灌注垂体后叶素可能是一种有意义的尝试,本研究结果可以推动这一治疗方式的进一步研究.

4 参考文献

- 1 单鸿, 罗鹏飞, 李彦豪. 临床介入诊疗学. 广东科技出版社, 1997: 193-194
- 2 陈勇, 陈卫国, 何晓峰. 经导管动脉栓塞治疗消化道动脉性出血. 中华放射学杂志 1998; 32: 345-347
- 3 Scheppach W, Wittenberg G, Hahn D, Langenfeld H, Burghardt W, Van Aerssen M, Ott G, Thiede A, Kasper H. [Massive hemorrhage from jejunal varices]. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 195-198 [PMID: 9173688]
- 4 周经兴, 江容坚. 疑难肠出血选择性血管造影阳性率影响因素的探讨(附21例分析). 广东医学 1997; 18: 84-85
- 5 Rollins ES, Picus D, Hicks ME, Darcy MD, Bower BL, Kleinhoffer MA. Angiography is useful in detecting the source of chronic gastrointestinal bleeding of obscure origin. *AJR Am J Roentgenol* 1991; 156: 385-388 [PMID: 1898820 DOI: 10.2214/ajr.156.2.1898820]
- 6 石振旺, 杨善峰, 李祥, 王志红, 李兆梅. 内镜下止血夹联合肾上腺素治疗消化道出血12例. 实用全科医学 2008; 6: 459-460
- 7 Walsh RM, Anain P, Geisinger M, Vogt D, Mayes J,

■创新盘点

近年来由于数字减影技术的广泛开展,用导管治疗消化系出血已经取得了广泛的应用. DSA已成为不明原因消化系出血尤其是动脉性大出血的首选治疗方案.

■同行评价

本文设计合理, 结果实用, 对临床医师有很好的参考价值。

- Grundfest-Broniatowski S, Henderson JM. Role of angiography and embolization for massive gastroduodenal hemorrhage. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 61-65; discussion 66 [PMID: 10457326 DOI: 10.1016/S1091-255X(99)80010-9]
- 8 Lewis BS. Small intestinal bleeding(Renew). *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 67-95 [DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70108-4]
- 9 Zuckerman DA, Bocchini TP, Birnbaum EH. Massive hemorrhage in the lower gastrointestinal tract in adults: diagnostic imaging and intervention. *AJR Am J Roentgenol* 1993; 161: 703-711 [PMID: 8372742 DOI: 10.2214/ajr.161.4.8372742]
- 10 罗泽斌, 吴剑波. 消化道出血的选择性血管造影诊断及介入治疗. *广东医学院学报* 1998; 16: 327-328, 334
- 11 李国华, 武广利, 杨卫宏, 宋颖妹, 白永明, 窦瑞新. 在消化道出血中DSA诊断与介入治疗的临床应用. *医学影像学杂志* 2006; 16: 49-51
- 12 陈克敏, 沈天真, 陈星荣. 小肠出血的介入放射学治疗. *国外医学(临床放射学分册)* 1989; 36: 324-326
- 13 Guy GE, Shetty PC, Sharma RP, Burke MW, Burke TH. Acute lower gastrointestinal hemorrhage: treatment by superselective embolization with polyvinyl alcohol particles. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 159: 521-526 [PMID: 1503016]
- 14 Palmaz JC, Walter JF, Cho KJ. Therapeutic embolization of the small-bowel arteries. *Radiology* 1984; 152: 377-382 [PMID: 6610888]
- 15 梁恩海, 官新立, 郑欣. 消化道出血腹腔动脉造影及介入栓塞应用价值. *中华全科医学* 2008; 6: 1083-1084
- 16 冯耀良, 李麟荪, 王杰. 不明原因消化道出血的血管造影诊断及介入治疗. *介入放射学杂志* 2001; 10: 141-142
- 17 石振旺, 杨善峰, 李祥, 王志红, 李兆梅. 内镜下止血夹联合肾上腺素治疗消化道出血12例. *实用全科医学* 2008; 6: 459-460

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … . 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

壶腹部肿瘤的诊断与局部切除

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科 湖北省武汉市 430030

陈冬, 在读博士, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81071775, 81272659

作者贡献分布: 课题设计由陈冬与秦仁义完成; 手术由秦仁义完成; 课题数据收集及统计分析由陈冬、朱峰、王敏及田锐完成; 论文撰写由陈冬与秦仁义完成; 课题监督由秦仁义完成。

通讯作者: 秦仁义, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科。

ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83665314

收稿日期: 2013-09-17 修回日期: 2013-11-04

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Diagnosis and local resection of ampullary tumors

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Ren-Yi Qin

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775 and 81272659

Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-09-17 Revised: 2013-11-04

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the diagnosis and local resection of ampullary tumors.

METHODS: Clinical and pathological data for 86 patients with ampullary tumors treated at our hospital from January 2011 to September 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of the 86 patients, 83 had biliary and pancreatic duct dilation, and type-B ultrasound could detect biliary and pancreatic duct dilation in all the 83 patients (100%). Thin-slice CT detected an ampullary lump or gallbladder wall enhancement in 80 of 86 patients (93.0%), while MRCP detected biliary and pancreatic duct dilation or an ampullary lump in 69 of 86 patients (80.2%). Fifty-two cases underwent EUS (endoscopic ultrasonography) and biopsy, and a

low echo mass was found in 49 cases (94.2%), of which 40 were malignant tumors. Biopsy proved malignancy in 7 of the 40 patients (17.5%). Intraoperative rapid frozen section proved malignancy in 72/77 (93.5%) of patients. Twenty-two patients underwent local excision of ampullary tumors and pancreaticobiliary duct plasty, of whom 9 were confirmed with benign diseases (high grade intraepithelial neoplasia in 5) and 13 with local malignancies. There was no death or complication after surgery and no recurrence during 2 to 32 months of follow-up.

CONCLUSION: Thin slice CT, MRCP and EUS are important tools for the diagnosis of ampullary tumors, while rapid intraoperative pathological examination has a high accuracy but with certain false negatives. Local excision of duodenal papilla and pancreaticobiliary duct plasty are safe, with minor trauma, few complications and low recurrence rate, particularly for ampullary benign tumors and localized malignant tumors.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ampullary tumors; Diagnosis; Local resection

Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Qin RY. Diagnosis and local resection of ampullary tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4185-4188 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4185>

摘要

目的: 探讨壶腹部肿瘤的诊断及局部切除的安全性和疗效。

方法: 回顾性分析2011-01/2013-09我院收治的86例壶腹部肿瘤患者的临床病理资料。

结果: 86例患者中, 83例胆胰管扩张, B超可见胆胰管扩张83例(83/83, 100%), 薄层CT扫描可见壶腹部肿块或者胆管壁强化80例(80/86, 93.0%), MRCP可见胆胰管扩张或壶腹部肿块69例(69/86, 80.2%), 52例患者行超声内

■背景资料

壶腹部肿瘤一般较小, 诊断较为困难, 随着医疗技术水平的提高及微创化手术理念的不断深入, 早期诊断及局部切除的方法被国内外文献不断报道。

■同行评议者

李宗芳, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院

■研发前沿

如何早期诊断以及局部切除术的手术指征、安全性、手术技巧和效果是壶腹部肿瘤研究的热点和重点。

镜及穿刺活检,可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%),其中恶性肿瘤40例,穿刺提示恶性7例(7/40, 17.5%),77例恶性肿瘤患者术中快速病检提示恶性72例(72/77, 93.5%);十二指肠乳头局部切除+胆胰管成形术22例,其中良性9例(5例为高级别上皮内瘤变),局部恶性13例,术后无死亡病例及手术并发症,随访2-32 mo无复发。

结论:薄层CT、MRCP及超声内镜具有重要的诊断作用,术中快速病检诊断肿瘤性质准确率高,但存在一定的假阴性;壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术是一种安全可靠的手术方式,创伤小,术后并发症及死亡率低,壶腹部良性肿瘤及局部恶变肿瘤局部切除后效果好,复发率低。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:壶腹部肿瘤;诊断;局部切除

核心提示:薄层CT、MRCP及超声内镜,术中快速病检对于壶腹部肿瘤的诊断具有非常重要的作用;壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术是一种安全可靠的手术方式,创伤小,术后并发症及死亡率低,壶腹部良性肿瘤及局部恶变肿瘤局部切除后效果好,复发率低。

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 秦仁义. 壶腹部肿瘤的诊断与局部切除. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4185-4188 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4185>

0 引言

壶腹部肿瘤是指十二指肠乳头内胆管、胰管及十二指肠大乳头区域的肿瘤。此部位肿瘤较小,诊断较为困难,一直以来,胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)都是壶腹部肿瘤首选的经典术式。随着医疗技术水平的提高及微创化手术理念的不断深入,我们必须更加精准地对此类患者进行诊断和治疗,现将我们的诊治经验报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组男41例,女45例。年龄43-67岁(57.78岁±7.76岁)。腹部隐痛不适82例,占95.3%,乏力、纳差伴皮肤巩膜黄染69例,占80.2%。

1.2 方法 22例良性及局部恶变患者采用了壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术。

统计学处理 所有数据均用SPSS13.0软件进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前检查及术中快速病检准确率 86例患者中,83例胆胰管扩张,B超可见胆胰管扩张83例(83/83, 100%),薄层CT扫描可见壶腹部肿块或者胆管壁强化80例(80/86, 93.0%),MRCP可见胆胰管扩张或壶腹部肿块69例(69/86, 80.2%),52例患者行超声内镜及穿刺活检,可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%),其中恶性肿瘤40例,穿刺提示恶性7例(7/40, 17.5%),77例恶性肿瘤患者术中快速病检提示恶性72例(72/77, 93.5%)(表1)。

2.2 局部切除术后并发症及随访 22例患者顺利完成了壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形术(图1),其中良性9例(5例为腺瘤高级别上皮内瘤变),局部恶性13例,术后无死亡病例及手术并发症,随访2-32 mo无复发。

2.3 术后病理结果 64例为腺癌,13例为腺瘤伴局部恶变,9例为良性病变,其中7例为腺瘤,5例伴有高级别上皮内瘤变,1例为炎性息肉,1例为腺瘤样增生。

3 讨论

以往一般认为壶腹部肿瘤基本都为恶性,但随着人们生活水平的提高及诊断技术水平的发展,国内外不断有良性及局部恶性的病例报道^[1,2]。Cattell^[3]于1950年首次报道了壶腹部癌可能存在腺瘤→上皮内瘤变→局部恶变→腺癌这一转化过程的现象,Beger也报道腺瘤癌变率为16.6%^[4]。这些报道及现象对我们胆胰外科医生提出了更高的要求:早期诊断和术前术中准确的定性诊断以及微创化的手术方式。

壶腹部肿瘤位于十二指肠乳头内胆管和胰管以及十二指肠大乳头区域,很早便可引起胆胰管排出不畅甚至梗阻,导致腹部不适及乏力、纳差、间歇性黄疸等相对轻微的临床症状,不易引起患者的重视。对于此类患者,我们建议常规行B超检查,B超无创,廉价,虽然受到肠气干扰,难以清晰显示肿块,但诊断胆胰管扩张准确率却很高,非常适合进行大规模普查,对于此类疾病的早期诊断具有非常重要的临床价值。如果发现胆胰管扩张可进一步行CA199检测、薄层CT扫、MRCP、超声内镜、ERCP等检查。有文献报道,CA199对壶腹部恶性肿瘤诊断的阳性率为84.4%^[5]。本组患者中,恶性患者91%升高,可

■相关报道

壶腹部肿瘤的诊断和治疗是肝胆胰外科领域的难点和重点,目前国内外相关的文献报道较多,分别总结了各自的诊治经验。

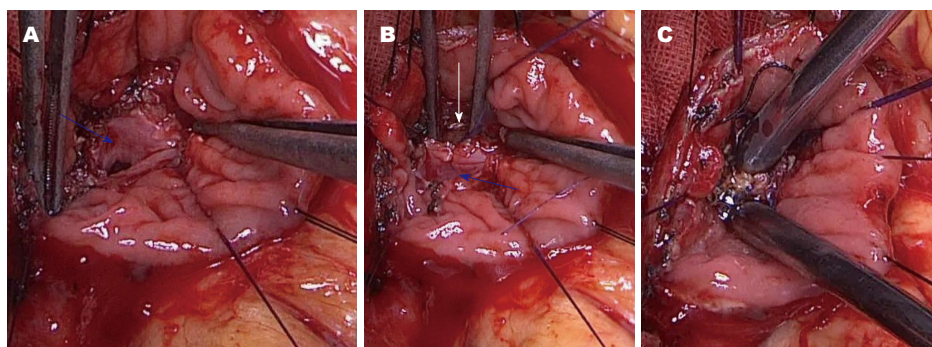


图1 壶腹部肿瘤局部切除+胆胰管成形手术过程。A: 肿瘤切除后正常的胰管断端; B: 肿瘤切除后正常的胰管和胆管断端, 白色箭头为胆管, 蓝色箭头为胰管; C: 胆总管和胰管开口及十二指肠黏膜之间完全内膜化, 胆胰管口成形呈“∞”形。

■创新盘点

本文结合国内外大量的文献报道及自己的诊治经验, 全面系统地总结了早期诊断的各种方法和准确率, 并重点介绍了局部切除的指征、疗效、手术技巧。

表1 术前检查及术中快速病检结果

检查	准确率
B超	提示胆胰管扩张(83/83, 100%)
CT	提示肿块或管壁强化(80/86, 93.0%)
MRCP	提示胆胰管扩张或肿块69例(69/86, 80.2%)
超声内镜	可见低回声肿块49例(49/52, 94.2%)
术前穿刺活检	提示恶性7例(7/40, 17.5%)
术中快速病检	提示恶性72例(72/77, 93.5%)

见CA199对于诊断壶腹部恶性肿瘤具有很大的提示作用, 但缺乏特异性。另外, 薄层CT扫描、MRCP、超声内镜及ERCP在此类疾病的诊断过程中也具有非常重要的作用和地位。我们认为薄层CT扫描是诊断非常重要的检查, 他能快速连续扫描, 在短时间内获得大量信息, 大大减少了图像的部分容积效应, 图像质量高, 能清晰显示肿块和强化, 也能准确评估肿瘤与周围血管的关系^[6,7]。MRCP可以非常清楚地显示出胆胰管扩张的形态, 并且对于鉴别结石和肿瘤以及内生性和外压型梗阻具有相当重要的作用。ERCP可直视十二指肠乳头病变, 并可同时进行组织钳夹活检和胆胰管造影, 可提供较有价值的信息, 但其为有创性检查, 可能并发胰腺炎、穿孔、感染, 临床应用受限。超声内镜诊断价值高^[8], 是内镜与超声两种技术相结合的检查方法, 既可通过内镜直接观察肿瘤黏膜表面的形态, 又可通过超声观察管壁各组织层次情况, 从而弥补了体表超声受胃肠气体干扰的缺陷, 也克服了内镜不能判断黏膜下病变及病变浸润深度的缺陷, 准确率高。术前穿刺活检及术中快速病检是手术决策前肿瘤定性诊断的重要手段, 对手术方式的选择起到了至关重要的作用。本组患者中穿刺活检的准确率为17.5%, 主要是假阴性的存在影响了其临床价值。术中快速病检准确率高, 可达90%以上, 但应

尽量完整切除后送检, 避免细针穿刺或者部分切除, 即便如此, 有些局部恶变的肿瘤仍难以确诊, 但从此类患者局部切除后的效果来看, 并不影响我们手术的决策, 是我们整个诊断过程中最重要最核心的检查。

PD是壶腹部肿瘤的经典手术方式, 但在当代外科将其作为唯一的手术方式早已不合时宜, Knox等^[9]报道了25例壶腹部癌局部切除, 无手术死亡, 5年生存率为51%, 疗效和PD相似, Tarazi等^[10]报道57例壶腹部癌, 其中局部切除11例, 根治性切除46例, 2年、5年生存率分别为: 37.8%、60.4%和40.9%、54.6%, 两组患者生存率没有显著性差异。支持这一术式的学者认为壶腹部肿瘤多发生于Vater壶腹处, 常波及胆胰管而影响胆汁及胰液排出, 故其临床症状出现早, 有利于早期诊断和治疗, 故就诊患者多为肿瘤早期, 淋巴转移机会少, 切缘无肿瘤残存即可达到与PD术相似的治疗效果。从我们的治疗经验来看, 壶腹部良性肿瘤及局部恶变的肿瘤局部切除的效果均好, 但术前很难判断肿瘤是否为早期, 且肿瘤早期发生淋巴转移并不少见, Yoon等^[11]报道早期十二指肠乳头癌(pTis、pT1)中存在淋巴结转移的占9%, 肿瘤<1 cm的癌淋巴结转移率为11.6%, 高分化癌淋巴结转移率为23.5%, 而肿瘤复发的多因素分析发现, 淋巴结转移是有统计学意义的独立预后指标, 局部切除术没有清扫淋巴结, 存在根治性的问题。而且为了达到切除彻底性, 切缘距肿瘤越远越好, Farouk等^[12]主张至少距肿瘤边缘1 cm, 而局部切除时, 操作空间狭小, 此点很难做到, 所以很难保证切除的彻底性。另外目前文献报道的局部切除术的例数尚少, 缺乏临床多中心大样本的前瞻性随机对照研究来进行最终疗效评定。故我们认为应严格把握局部切除的手术指征, 对于壶腹

■应用要点

本文对于壶腹部肿瘤的早期诊断及手术方式的选择和局部切除术后并发症的预防都具有非常重要的指导意义。

■同行评价
本文具有很强的
临床指导价值。

部良性肿瘤及局部恶变的肿瘤可行局部切除术, 一般情况差, 年龄大的恶性肿瘤患者也可以考虑行局部切除术。

壶腹部肿瘤局部切除术虽然创伤小, 但技术难度高, 不应忽视并发症的防治及其肿瘤切除的彻底性。Böttger等^[13]总结99例壶腹部癌局部切除术的手术死亡率7.1%。国外文献报道壶腹部癌局部切除术并发症发生率0%-25%, 国内报道48例局部切除并发症发生率为9.6%, 即便是对于壶腹部良性肿瘤, 也有复发的报道^[14,15]。为防止复发及术后并发症, 我们的手术体会是在显露出十二指肠乳头后沿乳头部边缘正常组织环形切开黏膜, 沿肿瘤边缘外侧约0.5 cm切开肌层进入胰腺实质, 向肿瘤上端游离直至显露出正常的胆管、胰管, 继续切断胆管、胰管, 将肿瘤由基底部完整切除, 如果肿瘤较大或者术中快速病检示切缘阳性, 可同时切除肿瘤周围部分胰腺组织。最后通过观察触摸、术中快速病检准确判断切缘有无癌细胞残留, 可保证切缘的阴性及手术范围的彻底性。切除后将十二指肠黏膜、胰腺实质、胆胰管壁用4.0 prolene无损伤缝线间断环形缝合, 胆总管和胰管开口及十二指肠黏膜之间完全内膜化, 胆胰管口成形呈“∞”形, 可防止术后并发症的发生。

4 参考文献

- 1 黄留业, 刘运祥, 吴承荣, 曹晓凌. 内镜下切除十二指肠乳头部良性病变, 中华内镜消化杂志 2006; 23: 286-287
- 2 郑本波, 李波, 李敬东. 胰十二指肠切除治疗胰腺良性疾病的心得. 肝胆外科杂志 2003; 11: 419-421
- 3 Cattell RB, Pyrtok LJ. Premalignant lesions of the ampulla of Vater. *Surg Gynecol Obstet* 1950; 90: 21-30, illust [PMID: 15396551]
- 4 Beger HG, Treitschke F, Gansauge F, Harada N,

Hiki N, Mattfeldt T. Tumor of the ampulla of Vater: experience with local or radical resection in 171 consecutively treated patients. *Arch Surg* 1999; 134: 526-532 [PMID: 10323425]

- 5 Tanaka N, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Ikeda M. The usefulness of serial changes in serum CA19-9 levels in the diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas* 2000; 20: 378-381 [PMID: 10824692]
- 6 Chang S, Lim JH, Choi D, Kim SK, Lee WJ. Differentiation of ampullary tumor from benign papillary stricture by thin-section multidetector CT. *Abdom Imaging* 2008; 33: 457-462 [PMID: 17712590]
- 7 Tublin ME, Tessler FN, Cheng SL, Peters TL, McGovern PC. Effect of injection rate of contrast medium on pancreatic and hepatic helical CT. *Radiology* 1999; 210: 97-101 [PMID: 9885593]
- 8 Demetriades H, Zacharakis E, Kirou I, Pramatesfakis MG, Sapidis N, Kanellos I, Betsis D. Local excision as a treatment for tumors of ampulla of Vater. *World J Surg Oncol* 2006; 4: 14 [PMID: 16524478]
- 9 Knox RA, Kingston RD. Carcinoma of the ampulla of Vater. *Br J Surg* 1986; 73: 72-73 [PMID: 3947884]
- 10 Tarazi RY, Hermann RE, Vogt DP, Hoerr SO, Esselstyn CB, Cooperman AM, Steiger E, Grundfest S. Results of surgical treatment of periampullary tumors: a thirty-five-year experience. *Surgery* 1986; 100: 716-723 [PMID: 3764694]
- 11 Yoon YS, Kim SW, Park SJ, Lee HS, Jang JY, Choi MG, Kim WH, Lee KU, Park YH. Clinicopathologic analysis of early ampullary cancers with a focus on the feasibility of ampullectomy. *Ann Surg* 2005; 242: 92-100 [PMID: 15973106]
- 12 Farouk M, Niotis M, Branum GD, Cotton PB, Meyers WC. Indications for and the technique of local resection of tumors of the papilla of Vater. *Arch Surg* 1991; 126: 650-652 [PMID: 2021350]
- 13 Böttger TC, Boddin J, Heintz A, Junginger T. Clinicopathologic study for the assessment of resection for ampullary carcinoma. *World J Surg* 1997; 21: 379-383 [PMID: 9143568]
- 14 Branum GD, Pappas TN, Meyers WC. The management of tumors of the ampulla of Vater by local resection. *Ann Surg* 1996; 224: 621-627 [PMID: 8916877]
- 15 Meneghetti AT, Safadi B, Stewart L, Way LW. Local resection of ampullary tumors. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1300-1306 [PMID: 16332486]

编辑 田滢 电编 闫晋利



单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用

朱 鸣, 唐 杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张 静, 李彦飞

朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142

朱鸣, 副主任医师, 主要从事老年消化病学研究。

作者贡献分布: 朱鸣负责临床资料的整理、统计; 小肠镜的操作由朱鸣、唐杰、金晓维、毛高平、宁守斌、张静及李彦飞完成。

通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科。

zhuming20121226@sina.cn

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-11-11

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases

Ming Zhu, Jie Tang, Xiao-Wei Jin, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jin Zhang, Yan-Fei Li

Ming Zhu, Jie Tang, Xiao-Wei Jin, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jin Zhang, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhuming20121226@sina.cn

Received: 2013-09-18 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the value of single balloon enteroscopy (SBE) in the diagnosis and treatment of small intestinal diseases.

METHODS: A total of 406 patients (255 males and 151 females) with suspected or confirmed small intestinal diseases underwent 629 SBE examinations (356 *via* the oral approach and 273 *via* the anal approach). A total of 292 cases (139 patients) underwent endoscopic therapy.

RESULTS: Of all the 406 cases, 300 were diagnosed with small intestinal diseases, and the diagnostic yield was 73.9% (300/406). The procedure time was 54.18 min \pm 11.870 min for the oral approach, and 64.53 min \pm 11.821 min for the anal approach. The intubation depth was 236.47 cm \pm 90.397 cm for the oral approach, and 184.18 cm \pm 65.716 cm for the anal approach. The main lesions were Peutz-Jeghers syndrome (119 cases), small intestinal inflammatory changes (45 cases), small

intestinal ulcer (23 cases), Crohn's disease (23 cases), carcinoma of the small intestine (17 cases), small intestinal stromal tumors (15 cases), small bowel polyps (13 cases), and Meckel's diverticulum (10 cases). A total of 139 patients underwent 292 endoscopic therapies, of whom 112 underwent the resection of polyps, 9 underwent endoscopic hemostatic therapy, 16 underwent small intestinal stent implantation, and 2 underwent foreign body removal.

CONCLUSION: SBE has a high diagnostic yield in small intestinal diseases and can be used therapeutically, representing a safe and reliable method for diagnosis and treatment of intestinal diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Single balloon enteroscopy; Intestinal disease; Clinical data

Zhu M, Tang J, Jin XW, Mao GP, Ning SB, Zhang J, Li YF. Single balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of small intestinal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4189-4193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4189.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4189>

摘要

目的: 评价单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)在小肠疾病诊断和治疗中的临床应用价值。

方法: 对怀疑或证实有小肠疾病的406例患者(男255例, 女151例)在麻醉状态下行629例次(经口356例次, 经肛273例次)SBE检查。并对292例次(139例患者)行SBE下治疗。

结果: 406例患者中有300例诊断出小肠疾病, 检出阳性率为73.9%(300/406), SBE检查时间(经口54.18 min \pm 11.870 min, 经肛64.53 min \pm 11.821 min), 插镜深度(经口236.47 cm \pm 90.397 cm, 经肛184.18 cm \pm 65.716 cm)。检出的主要病变有: Peutz-Jeghers综合征(119例)、小肠炎性改变(45例)、小肠溃疡(23例)、克罗

■背景资料

2007年Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发出单气囊小肠镜, 但是, 目前对单气囊小肠镜的临床应用报道以小样本资料为多, 作为一项较新的小肠检查手段, 其临床价值还需要进一步探讨和证实。

■同行评议者

董蕾, 教授, 主任医师, 博士生导师, 西安交通大学第二附属医院消化内科

■研发前沿

气囊辅助小肠镜是目前用于诊治小肠小肠疾病的重要手段,单气囊小肠镜作为一项较新的小肠检查治疗手段其临床价值还需要较大样本临床资料的积累和研究。

恩病(23例)、小肠癌(17例)、小肠间质瘤(15例)、小肠息肉(13例)、Meckel's憩室(10例)。对139例患者行292例次镜下治疗,其中112例患者行息肉切除术,镜下止血治疗9例,小肠支架植入术16例,镜下异物取出2例。

结论: SBE对小肠疾病有较高的诊断率,并可进行多种镜下治疗,是一种安全可靠的小肠疾病诊疗手段。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 单气囊小肠镜; 小肠疾病; 临床资料

核心提示: 单气囊小肠镜是一项较新的小肠检查治疗手段,目前的临床应用报道以小样本资料为多。本文总结了该院2009年以来629例次单气囊小肠镜检查的资料,认为单气囊小肠镜是一种安全可靠的小肠疾病诊疗手段。

朱鸣, 唐杰, 金晓维, 毛高平, 宁守斌, 张静, 李彦飞. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断治疗中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4189-4193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4189.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4189>

0 引言

气囊辅助小肠镜是目前用于诊治小肠小肠疾病的重要手段,目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE),二者均通过带气囊的外套管辅助进行。2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出SBE,与DBE相比,SBE只有外套管一个气囊,镜身前端少了一个气囊,其镜端的可曲度及视角范围明显增加,操作更加简便^[1]。但是,目前对SBE的临床应用报道以小样本资料为多,作为一项较新的小肠检查手段,其临床价值还需要进一步探讨和证实。本文总结了该院2009年以来积累的629例次SBE检查的资料,进行回顾性总结分析。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2009-07/2013-05在我院消化内镜室行单气囊小肠镜检查治疗的629例(406例患者)的临床资料。器械: Olympus SIF-Q260单气囊小肠镜。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均签署小肠镜检查知情同意书及麻醉同意书。常规检查血常规、凝

血功能、肝肾功能、心电图等,无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌证。患者术前1 d进食流质饮食,晚餐后禁食,并口服蓖麻油40 mL,饮水500 mL,第2天上午服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道,检查结束前不能进食。行小肠镜检查患者均给予丙泊酚静脉麻醉辅助内镜检查。检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg,并全程行心电监护及氧饱和度监测。分别记录每例次小肠镜检查时间、插镜深度、诊断以及是否做镜下治疗及有无并发症。检查时间为进镜时间至退出内镜结束,其中如有镜下治疗,则扣除镜下治疗时间。

1.2.2 单气囊小肠镜检查: 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜。由内镜主机EVIS Lucera系统、奥林巴斯SIF-Q260单气囊小肠镜及外套管、小肠镜专用气囊控制系统及相关附件组成。内镜工作长度200 cm,外径9.2 mm,钳道直径2.8 mm,带气囊的外套管有效长度140 cm,外径13.2 mm,内径11 mm,视角140度。外套管前端装有1个可充气、放气的气囊,连接于可自动调整充气量的气泵。检查前应先观察外套管头端的气囊有无漏气,然后将外套管套在小肠镜镜身上,并注入润滑剂,将气泵的注气管道与气囊相连,给气囊充气 and 放气,确认气泵工作正常。由两名内镜医师(一名为主要检查者、另一名为辅助检查者)进行检查及一名麻醉医师配合检查。通过调整镜身角度和外套管反复充气、放气、钩拉、滑行等动作,将肠管不断地套在SBE镜身上,直至到达病灶。1个气囊注气及抽气均由气泵自动控制,抽气时压力为-6.0~-6.5 kPa;注气时压力为7.0-7.5 kPa。估计病变在中上小肠肠段者选择经口腔进镜,估计病变在远端小肠者选择经肛门进镜。经一端进镜未发现病变者,内镜抵达相应部位后,以注射针黏膜下注射美蓝多点标记,继续另一侧进镜检查。

1.2.3 耐受性与安全性: 患者均能耐受检查,未发生麻醉意外。少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状,无需特殊处理均可自行缓解,未发生麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症。SBE检查时,3例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔,1例在息肉切除过程中发生出血,均予以外科手术治疗后治愈。

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件,进镜时间及进镜深度以mean±SD表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

■相关报道

目前国内关于单气囊小肠镜的研究多数认为其进镜时间及插镜深度较双气囊小肠镜无明显差异。双气囊小肠镜通过气囊固定肠腔,单气囊小肠镜通过镜身前端成角勾住肠管,仅需1个气囊交替充放气,镜端灵活、视角大,具有操作上的优势。

2 结果

对406例患者行629例次检查, 患者年龄10-80岁(41.01岁 \pm 16.380岁); 男255例, 女151例。经口侧检查356例, 进镜时间20-90 min(54.18 min \pm 11.87 min); 插镜深度10-460 cm(236.47 cm \pm 90.397 cm)。经肛侧检查273例, 进镜时间35-98 min(64.53 cm \pm 11.821min); 插镜深度10-400 cm(184.18 cm \pm 65.716 cm)。共151例患者行双侧SBE检查, 仅有9例患者完成对接检查。

406例患者中有300例诊断出小肠疾病, 检出阳性率为73.9%。其中Peutz-Jeghers综合征: 119例, 小肠炎性改变45例, 小肠溃疡23例, 克罗恩病23例, 小肠癌17例, 小肠间质瘤15例, 小肠息肉13例, Meckel's 憩室10例, 其他小肠憩室7例, 小肠炎性改变并出血4例, 小肠毛细血管扩张3例, 小肠狭窄3例, 十二指肠外压狭窄改变2例, 小肠淋巴管扩张2例, 吻合口溃疡及吻合口炎2例, 十二指肠球部溃疡2例, 胃溃疡1例, 十二指肠壅积症1例, 蓝色橡皮疱痣综合征1例, 小肠淋巴瘤1例, 小肠血管出血1例, 空肠假牙1例, 小肠胶囊滞留1例, 盲肠瘘孔1例, R-Y吻合术后吻合口成角改变1例, 直肠炎1例。另106例未发现小肠病变。

常见受检及镜下治疗原因为诊断或疑为P-J综合征、消化系出血、腹痛、腹胀、腹泻等, 常见受检原因的阳性检出率如表1。

共139例(292例次)患者行镜下治疗, 其中P-J综合征行镜下息肉切除术105例, 其他小肠息肉切除7例, 最多1次镜下切除息肉40枚, 最大切除息肉为8 cm \times 10 cm。3例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔, 1例在息肉切除过程中发生出血, 均予以外科手术治疗后治愈。镜下止血9例(喷洒止血药2例, 注射肾上腺素盐水2例, 注射聚桂醇2例, 电凝2例, 钛夹夹闭血管1例), 小肠梗阻支架植入术16例, 空肠异物取出2例(1例为假牙, 1例为未排出的胶囊)。

3 讨论

气囊辅助内镜是小肠疾病检查手段上的突破性进展, 理论上可以在不开腹的情况下对全小肠进行直视行检查。2001年日本学者Yamamoto等^[2]率先报道了DBE进行全小肠检查的研究, DBE图像清晰, 操作精确, 发现病变可以取活检、做标记, 并且可以行治疗, 是一种可靠的小肠疾病诊治手段^[3]。SBE是在DBE的基础上改进而来的, 同样具有图像清晰、操作精确, 可镜下治疗等优点, 从操作原理上看, DBE通过气囊固定肠腔,

表 1 单气囊小肠镜的常见受检原因及阳性检出率

受检原因	n	检出小肠病变(n)	检出阳性率(%)
疑为或诊断的	121	120	99.2
P-J综合征			
腹痛	92	48	52.2
黑便及呕血	43	38	88.4
便潜血阳性	38	14	36.8
便血	35	33	94.3
梗阻	35	33	94.3
腹泻	20	11	55.0
腹胀	22	3	13.6
总计	406	300	73.9

而SBE通过镜身前端成角勾住肠管, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势^[4]。DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能^[5], 而SBE则一般不会出错, 这使得其操作更简便。由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间^[6]。

本组资料总结了406例患者的629例次检查, 其中经口侧检查356例, 进镜时间为54.18 min \pm 11.87 min; 插镜深度236.470 cm \pm 90.397 cm。经肛侧检查273例, 进镜时间为64.530 min \pm 11.821 min; 插镜深度184.180 cm \pm 65.716 cm。

目前国内外关于SBE的研究报道还不是很多, 多数认为SBE在进镜时间及插镜深度方面较DBE无明显差异。任玮等^[6]将50例患者随机分组进行60例小肠镜检查, 认为SBE在准备时间、操作方面明显优于DBE, 但在检查时间、插镜深度、病变发现率方面无明显差异。多中心前瞻性研究比较DBE和SBE在小肠疾病患者100例中的应用, 结果显示在检查前准备时间和经口操作时间上SBE占优, 而全小肠检查完成率上则DBE占优势^[7]。Efthymiou等^[8]对53例次SBE及66例次DBE进行分析, 认为在插镜深度及进镜时间上二者并无统计学差异。Lenz等^[9]对904例患者进行分析, 其中1052例行DBE、515例行SBE, 数据显示SBE相对于DBE, 其插入深度较低, 但诊断率较高。而我科从2004年引进DBE, 2009年引进SBE, 积累了丰富的小肠镜操作经验, 从我们的经验看, SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面, 并不处于劣势, 且在准备时间、操作性能方面优于DBE^[10]。

本研究中SBE的阳性检出率为73.9%, 与其他相关报道的结果相似^[11-13], 在途径选择方面,

■创新盘点

目前对单气囊小肠镜的临床应用报道以小样本资料为多, 作为一项较新的小肠检查手段, 其临床价值还需要进一步探讨和证实。本文总结了本院2009年以来积累的629例次单气囊小肠镜检查的资料。

■应用要点

我们认为单气囊小肠镜是一种安全、可靠的小肠疾病诊疗手段, 对小肠疾病又较高的检出率, 可进行多种镜下治疗, 并发症少, 具有较好的临床应用前景。

原则上是根据症状和其他辅助检查预判断病变的位置后, 选择经肛或经口途径。但目前发达国家常常先采用胶囊内镜对整个消化系进行一次检查, 再决定SBE的进镜方式, 这样可以提示SBE的进镜途径, 因SBE并非均能做到对接检查, 胶囊内镜有可能观察到小肠中部到达不了的盲区, 从而提高疾病的阳性检出率^[14,15], 但检查费用可能会有所增加。对于无相关症状或检查提示病变部位的患者, SBE可先行经口途径检查, 操作中内镜应尽可能下行, 完成全小肠的2/3长度的检查, 使经肛检查的操作相对容易。

本组资料中共151例患者行双侧SBE检查, 仅有9例患者完成对接检查。SBE理论上可实现全小肠检查, 少数医师甚至可以实现经肛或经口的一次性全小肠检查, 但目前SBE完成全小肠检查的成功率为5%-25%, 低于DBE^[5,7]。

本组资料中检出疾病依次为: Peutz-Jeghers综合征、小肠炎性改变、小肠溃疡、克罗恩病、小肠癌、小肠间质瘤、小肠息肉、Meckel's憩室, 与DBE检出的疾病谱类似^[16]。其中主诉为消化系出血及小肠梗阻的检出阳性率较高, 而主诉为腹胀者的检出阳性率较低。

共139例(292例次)患者行镜下治疗, 其中112例行镜下息肉切除术(105例为Peutz-Jeghers综合征), 9例行镜下止血, 16例行小肠梗阻支架植入术, 2例行空肠异物取出。

Peutz-Jeghers综合征(黑色素斑-胃肠多发息肉综合征)是一种常染色体显性遗传性疾病, 临床表现为皮肤黏膜黑斑和消化系多发息肉。由于多发及巨大的胃肠息肉可以引起出血、腹痛、肠套叠和肠梗阻等严重临床症状, 而且息肉癌变率也较高, 给患者生命健康带来严重危害^[17]。传统的外科手术治疗存在创伤大, 术后并发症多, 需要反复手术治疗使患者无法承受等诸多缺陷。我院为全军小肠疾病诊疗中心。因此, 来我院行检查治疗的P-J综合征患者较多。本组资料中通过SBE对105例P-J综合征患者镜下息肉切除术, 最多1次镜下切除息肉40枚, 最大切除息肉为8 cm×10 cm。除4例患者出现肠穿孔或出血的并发症外, 均予以外科手术治疗后治愈, 其余检查及治疗的患者均未发生并发症。说明SBE是治疗Peutz-Jeghers综合征的一种有效方法, 可使多数患者避免开腹手术。

小肠梗阻的原因可能为克罗恩病、小肠肿瘤、肠壁外肿物外压或肠粘连等, 对于已经失去手术机会的肿瘤晚期患者, 为解除梗阻症状,

可采用支架植入术, 多数患者植入支架后, 梗阻症状明显缓解, 但其中2例患者因梗阻前方成角或存在多处狭窄, 放入支架后仍不能解除肠梗阻的症状。

对于小肠出血的患者, 可根据病变的不同, 选择不同的止血方法, 如喷洒止血药、注射肾上腺素盐水、注射聚桂醇、电凝2例或钛夹夹闭血管。本组资料中1例10岁男性患儿, 临床表现为反复消化系出血及贫血, 诊断为蓝色橡皮大疱性痣综合征(blue rubber bleb nevus syndrome, BRBNS), BRBNS是一种极其罕见的皮肤及内脏器官等多处血管畸形的综合征, 多于儿童期发病, 组织学检查表现为毛细血管瘤或海绵状血管瘤, 以皮肤、胃肠道血管畸形以及消化系出血、贫血等为主要临床表现, 甚至可发生致命性消化系大出血, 该病为常染色体显性遗传性疾病, 可能与9号染色体短臂点突变有关, 1958年William Bean报道了2例该病例^[18]。本例患儿经SBE下多次聚桂醇注射治疗, 消化系出血症状基本缓解。

通过总结以上的临床资料, 我们认为SBE是一种安全、可靠的小肠疾病诊疗手段, 对小肠疾病又较高的检出率, 且在准备时间、操作性方面优于DBE, 并可进行多种镜下治疗, 并发症少, 具有较好的临床应用前景。

4 参考文献

- 1 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]
- 2 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- 3 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]
- 4 Manno M, Barbera C, Bertani H, Manta R, Mirante VG, Dabizzi E, Caruso A, Pigo F, Olivetti G, Conigliaro R. Single balloon enteroscopy: Technical aspects and clinical applications. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 28-32 [PMID: 22347529 DOI: 10.4253/wjge.v4.i2.28]
- 5 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]
- 6 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊

- 小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. 中国基层医药 2011; 18: 1653-1655
- 7 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönke-müller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]
- 8 Efthymiou M, Desmond PV, Brown G, La Nauze R, Kaffes A, Chua TJ, Taylor AC. SINGLE-01: a randomized, controlled trial comparing the efficacy and depth of insertion of single- and double-balloon enteroscopy by using a novel method to determine insertion depth. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 972-980 [PMID: 22980289 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.033]
- 9 Lenz P, Roggel M, Domagk D. Double- vs. single-balloon enteroscopy: single center experience with emphasis on procedural performance. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1239-1246 [PMID: 23503664 DOI: 10.1007/s00384-013-1673-1]
- 10 金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞. 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3019-3023
- 11 马丽黎, 陈世耀, 秦文政, 胡健卫, 徐关东, 钟芸诗, 张轶群, 陈巍峰, 姚礼庆. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 399-401
- 12 陈白, 熊理, 高翔, 王锦辉, 张宁, 崔毅. 单气囊小肠镜诊治小肠疾病的安全性及其临床价值观察. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 134-137
- 13 Gong W, Zhi FC, Bai Y, Xiao B, De Liu S, Xu ZM, Jiang B. Single-balloon enteroscopy for small bowel diseases: results from an initial experience at a single Chinese center. *J Dig Dis* 2012; 13: 609-613 [PMID: 23134075]
- 14 李晓波, 戈之铮, 戴军, 高云杰, 刘文忠, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜检查对双气囊小肠镜进镜方式选择的指导作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1828-1832
- 15 Nakamura M, Niwa Y, Ohmiya N, Miyahara R, Ohashi A, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Preliminary comparison of capsule endoscopy and double-balloon enteroscopy in patients with suspected small-bowel bleeding. *Endoscopy* 2006; 38: 59-66 [PMID: 16429356 DOI: 10.1055/s-2005-870446]
- 16 毛高平, 宁守斌, 白莉, 唐杰, 曹传平, 杨春敏, 陈英, 周平, 杜斌. 双气囊电子小肠镜在小肠疾病诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3049-3053
- 17 宁守斌, 毛高平, 曹传平, 白莉, 唐杰, 杨春敏, 周平, 陈英, 杜斌. 双气囊小肠镜对Peutz-Jeghers综合征患者小肠息肉的治疗价值. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1588-1591
- 18 Moodley M, Ramdial P. Blue rubber bleb nevus syndrome: case report and review of the literature. *Pediatrics* 1993; 92: 160-162 [PMID: 8516068]

■同行评价

单气囊小肠镜是一种新的小肠疾病检查方法, 临床有推广价值. 本文样本量较大, 有一定的临床体会和经验.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值

陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦

■背景资料

小肠长期以来都是消化系检查的盲区, 小肠结肠计算机体层成像(computed tomography, CT)双期扫描在对病变定位、定性方面有一定局限性, 而电子小肠镜因具有深部可视化诊断和组织学诊断等独特优势而对小肠疾病有较强的诊断能力, 其临床应用日益广泛。

陈尚霖, 华中科技大学同济医学院附属同济医院第二临床学院 湖北省武汉市 430030

谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

陈尚霖, 在读本科生, 主要从事临床医学相关方面的研究。
作者贡献分布: 本课题由周琦与田德安设计; 谢华平、吴小力、黎培员、刘梅及周琦进行小肠镜操作; 陈尚霖与周琦进行病例收集、数据统计分析、论文撰写和修改; 周琦进行论文审阅和修改。

通讯作者: 周琦, 副教授, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科, zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83663334

收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-10-31 在线出版日期: 2013-12-28

Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases

Shang-Lin Chen, Hua-Ping Xie, Xiao-Li Wu, Pei-Yuan Li, Mei Liu, De-An Tian, Qi Zhou

Shang-Lin Chen, Second Clinical College, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Hua-Ping Xie, Xiao-Li Wu, Pei-Yuan Li, Mei Liu, De-An Tian, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, China. zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-09-11 Revised: 2013-10-23
Accepted: 2013-10-31 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases by comparing with enterocolonic double phase computed tomography (CT).

METHODS: A retrospective analysis of 273 electronic enteroscopy procedures were carried out in 170 patients with suspected small bowel diseases, 129 of whom received enterocolonic double phase CT scan at the same time. The indications, detection rate, positive findings, and diagnostic yield of electronic enteroscopy were compared with those of CT. The diagnostic ac-

curacy of electronic enteroscopy and CT was determined by comparing with pathological diagnosis.

RESULTS: Obscure gastrointestinal bleeding (OGIB) was the most common indication (60.6%, 103/170) for electronic enteroscopy. Inflammatory lesions, polyposis or tumors, and vascular lesions made up the first three positive findings of electronic enteroscopy in patients with suspected small bowel diseases. The detection rate and diagnostic yield of electronic enteroscopy were higher than those of CT [89.4% (152/170) vs 63.6% (82/129), 67.6% (115/170) vs 34.1% (44/129), both $P < 0.05$]. In patients with OGIB, the detection rate and diagnostic yield of electronic enteroscopy were also higher than those of CT [95.1% (98/103) vs 52.6% (41/78), 68.9% (71/103) vs 21.8% (17/78), both $P < 0.05$].

CONCLUSION: The diagnostic capacity of electronic enteroscopy is better than that of CT. Suspected OGIB is the most common indication for electronic enteroscopy, which has a relatively high detection rate and diagnostic yield. Electronic enteroscopy is a safe and effective diagnostic modality for small bowel diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Electronic enteroscopy; Computed tomography; Small bowel disease; Diagnosis

Chen SL, Xie HP, Wu XL, Li PY, Liu M, Tian DA, Zhou Q. Diagnostic value of electronic enteroscopy in small bowel diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4194-4199 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4194>

摘要

目的: 分析电子小肠镜的适应证、病变检出率、阳性发现和诊断率并与小肠结肠计算机体层成像(computed tomography, CT)双期扫描进行对比, 从而探讨电子小肠镜对小肠疾病的诊断价值。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

方法: 回顾性分析我院消化科疑诊为小肠疾病的患者170例, 所有患者均行电子小肠镜检查共273例次(经口检查152例次, 经肛检查121例次, 双侧对接检查103例次)。其中, 129例患者同时经过了小肠结肠CT双期扫描检查。对比分析小肠镜和CT的适应证、病变检出率及阳性发现, 并将小肠镜诊断、CT结果与病理诊断(内镜下活检病理或/和手术病理)进行比较, 判断小肠镜和CT的诊断准确率。

结果: 小肠镜检查适应证中, 不明原因消化系出血占60.6%(103/170)。炎性病变、息肉或肿瘤以及血管性病变是小肠镜的三大阳性发现。疑患小肠疾病患者中, CT的病变总检出率为63.6%(82/129), 整体诊断率为34.1%(44/129); 小肠镜的病变总检出率为89.4%(152/170), 整体诊断率为67.6%(115/170), 均明显高于CT($P<0.05$)。其中, 对于不明原因消化系出血患者, CT的病变检出率为52.6%(41/78), 诊断率为21.8%(17/78); 小肠镜的病变检出率为95.1%(98/103), 诊断率为68.9%(71/103), 小肠镜对不明原因消化道出血的病变检出率和诊断率亦高于CT($P<0.05$)。

结论: 电子小肠镜对小肠疾病的病变检出和诊断能力均明显优于CT, 并且对不明原因消化系出血有相对较高的病变检出率和诊断率, 是一种安全高效的小肠疾病检查方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 电子小肠镜; 计算机体层成像; 小肠疾病; 诊断

核心提示: 电子小肠镜对小肠疾病的病变检出和诊断能力均明显优于小肠结肠CT双期扫描, 并且对不明原因消化系出血有相对较高的病变检出率和诊断率。但考虑到CT的无创性, 临床上建议进行联合检查。

陈尚霖, 谢华平, 吴小力, 黎培员, 刘梅, 田德安, 周琦. 电子小肠镜在小肠疾病中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4194-4199 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4194>

0 引言

小肠疾病起病隐匿、症状特异性不高, 且检查手段有限, 一直是胃肠道疾病诊治中的盲区。常规检查手段如钡剂造影、腹部B超等的敏感性 & 特异性均较差; 传统的推进式小肠镜所能探索到的小肠深度有限, 内镜仅能到达屈氏韧带

下40-150 cm处; 胶囊内镜由于其有较高的假阴性率、移动不能控制、容易漏诊单一病变, 尤其在临床上的运用^[1]。电子小肠镜包括了双气囊和单气囊小肠镜, 是近十年来先后发展起来的一项用于深部小肠检查的新方法^[1,2]。国内外初步的临床应用表明, 电子小肠镜对小肠疾病有很好的诊断能力, 检查并发症少。但由于其设备昂贵, 操作要求高, 且需要麻醉配合, 限制了其在临床上的广泛使用。小肠结肠CT双期扫描为非创伤性检查, 临床应用十分广泛。本文就我院自2009年以来积累的273例次电子小肠镜检查的病例作总结和分析, 并与小肠结肠CT双期扫描结果进行比较。

1 材料和方法

1.1 材料 2009-01/2013-03华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科, 对已接受电子胃镜和结肠镜检查未能确诊, 疑诊为小肠疾病的170例患者, 男103例, 女67例, 平均年龄43.0岁(15-82岁), 进行了273例次电子小肠镜检查, 其中经口152例次, 经肛121例次, 双侧对接检查103例次, 全小肠检查率为60.6%(103/170)。无一例发生并发症。170例患者中, 共有129例经过了小肠结肠CT双期扫描, 男78例, 女51例, 平均年龄43.5岁(15-82岁)。单气囊电子小肠镜系统由奥林巴斯公司生产, 包括主机(CV 260)、内镜(OLYMPUS SIF TYPE Q260)、外套管(ST-SB1)和气泵(OBCU)等。双气囊电子小肠镜系统由富士能公司生产, 包括主机(System 4400)、内镜(Fujinon EN-450P5/20)、外套管(Fujinon TS-13140)和气泵(PB-20)等。

1.2 方法

1.2.1 电子小肠镜检查: 患者于术前12 h清洁肠道, 口服复方聚乙二醇256 g。检查中予以丙泊酚与芬太尼全程静脉麻醉。根据患者的临床表现和相关检查结果提示选择首先从口腔和/或肛门进镜。当内镜抵达相应部位后如仍未发现病变, 用美蓝喷洒标记或印度墨水标记, 再由另一侧进镜完成全小肠的检查。

1.2.2 小肠结肠CT双期扫描: 采用美国通用电器公司生产的宝石CT(CT750 HD), 扫描条件为120 kV, 螺距0.984, 采集层厚5 mm, 重建层厚1.25 mm。患者于检查前1 h口服蒸馏水1000 mL。检查时静脉注入造影剂(碘帕醇注射液), 主动脉强化值达100-120 Hu时智能触发进行动脉期扫

■ 研发前沿

电子小肠镜的出现使内镜下完成全小肠的检查成为可能, 消除了检查盲区, 并可对小肠病变进行定位和活组织检查, 使小肠疾病的诊断有了显著进展。而小肠结肠CT双期扫描也具有一定诊断价值。目前国内对两者在小肠疾病中诊断价值的对比研究尚较缺乏。

■相关报道

国外有研究认为双气囊电子小肠镜是小肠疾病非手术诊断的金标准。2012年, Honda 比较了电子小肠镜与对比增强CT在小肠肿瘤诊断价值方面的差异, 结果显示前者的诊断准确率更高。但也有CT对小肠壁及肠外病变更具诊断优势的报道。因此, 陈李华等建议对疑患小肠疾病者进行二者的联合检查。

表 1 小肠镜和CT检查的适应证及病变检出率比较

适应证	小肠镜		CT		P值
	阳性例数(总数)	病变检出率(%)	阳性例数(总数)	病变检出率(%)	
不明原因消化系出血	98(103)	95.1	41(78)	52.6	<0.05
慢性腹痛	36(46)	78.3	26(33)	78.8	>0.05
不完全性肠梗阻	8(10)	80.0	9(10)	90.0	>0.05
慢性腹泻	6(6)	100.0	3(4)	75.0	- ¹
慢性腹胀	3(4)	75.0	2(3)	66.7	- ¹
不明原因纳差	1(1)	100.0	1(1)	100.0	- ¹
合计	152(170)	89.4	82(129)	63.6	<0.05

¹由于样本量较小而未计算P值。

表 2 小肠镜和CT在所有被检者及不明原因消化系出血者中的阳性发现(n)

阳性发现	小肠镜		CT	
	所有被检者	不明原因消化系出血	所有被检者	不明原因消化系出血
炎性病变	96	54	38	15
息肉或肿瘤	23	18	20	12
血管性病变	14	13	4	4
憩室	11	8	1	1
其他 ¹	8	5	19	9
合计	152	98	82	41

¹小肠镜的“其他”发现包括寄生虫2例, 隆起性病变性质待定5例, 十二指肠、空肠交汇处狭窄(外压可能)1例; CT的“其他病变”包括不能确定病因的淋巴结增多、肠壁增厚, 定性不明的结论如无法确定炎性或肿瘤性病变, 以及其他无法明确病因的阳性发现如肠梗阻。

描, 延迟30 s进行静脉期扫描, 采集的数据经过ADW4.5系统进行图像处理分析并进行重建。

1.2.3 病理诊断: 包括内镜下活检或/和手术病理证实。无法通过内镜直视下明确诊断的病例, 对病灶及其周围组织进行多处取材并送病检。因发现占位性病变或诊断不明而行手术治疗的病例, 术后行病理检查明确病变性质。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 运用 χ^2 检验分析数据, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠镜和CT检查的适应证 170例疑患小肠疾病的患者均接受了小肠镜检查, 检查原因以不明原因消化系出血最为常见, 占60.6%(103/170), 其余为慢性腹痛27.1%(46/170), 不完全性肠梗阻5.9%(10/170), 慢性腹泻3.5%(6/170), 慢性腹胀2.4%(4/170), 不明原因纳差0.6%(1/170)。129例患者接受CT检查, 适应证与小肠镜相同, 其中不明原因消化系出血占60.5%(78/129)。

2.2 两者检查的病变检出率和阳性发现比较

2.2.1 病变检出率: 小肠镜和CT的病变总检出率分别为89.4%(152/170)和63.6%(82/129), 差异有统计学意义($P<0.05$)。对不明原因消化系出血的病变检出率小肠镜为95.1%(98/103), CT为52.6%(41/78), 差异有统计学意义($P<0.05$)。在不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢性腹胀中, 小肠镜的病变检出率分别为80.0%(8/10)、100.0%(6/6)、75.0%(3/4), CT则分别为90.0%(9/10)、75.0%(3/4)、66.7%(2/3), 二者差异无统计学意义。二者对慢性腹痛的病变检出率相近。两种检查手段的适应证和病变检出率的对比如表1。

2.2.2 阳性发现: 小肠镜的阳性发现中, 炎性病变(63.2%, 96/152)最为常见(表2), 其后依次为息肉或肿瘤(15.1%, 23/152)、血管性病变(9.2%, 14/152)、憩室(7.2%, 11/152)以及其他病变(5.3%, 8/152)。CT的前两位阳性发现与小肠镜相同, 但比例有差异, 分别为炎性病变46.3%(38/82)、息肉或肿瘤24.4%(20/82)。其中,

表 3 小肠镜和CT检查在不同适应证中的诊断率比较

适应证	小肠镜		CT		P值
	确诊数(检查总数)	诊断率(%)	确诊数(检查总数)	诊断率(%)	
不明原因消化系出血	71(103)	68.9	17(78)	21.8	<0.05
慢性腹痛	29(46)	63.0	19(33)	57.6	>0.05
不完全性肠梗阻	6(10)	60.0	5(10)	50.0	>0.05
慢性腹泻	5(6)	83.3	1(4)	25.0	—
慢性腹胀	3(4)	75.0	1(3)	33.3	—
不明原因纳差	1(1)	100.0	1(1)	100.0	—
合计	115(170)	67.6	44(129)	34.1	<0.05

■创新盘点

本文的创新之处在于, 比较电子小肠镜和小肠结肠CT双期扫描在适应证、病变检出率及阳性发现等方面的差异, 病例样本较多, 并将小肠镜诊断、CT结果与病理诊断这一金标准进行对照, 判断小肠镜和CT的诊断准确率, 使结论更加可信。

小肠镜的“其他病变”包括寄生虫病2例, 隆起性病变性质待定5例, 十二指肠、空肠交汇处狭窄(外压可能)1例; CT的“其他病变”包括不能确定病因的淋巴结增多、肠壁增厚, 定性不明的结论如无法确定炎性或肿瘤性病变, 以及其他无法明确病因的阳性发现如肠梗阻。

2.3 小肠镜与CT的诊断情况比较 我们将小肠疾病的诊断定义为: 经内镜下活检和/或手术病理证实, 并能够解释患者临床表现的综合诊断。170例患者中有91例进行了内镜下活检, 并有35例因发现占位性病变或诊断不明等行手术治疗, 术后行病理检查明确病变性质。

2.3.1 小肠镜和CT的诊断率比较: 170例接受小肠镜检查的患者中, 经病理证实, 有115例的小肠镜结果与病理诊断相符, 小肠镜的整体诊断率为67.6%(115/170)。129例经CT检查的患者, 经病理证实有44例的CT结果与病理诊断一致, 整体诊断率为34.1%(44/129), 小肠镜对小肠疾病的整体诊断率高于CT($P<0.05$)。对于不明原因消化系出血的患者, 小肠镜的诊断率为68.9%(71/103), 显著高于CT的21.8%(17/78), 差异有统计学意义($P<0.05$)。两种检查手段对慢性腹痛、不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢性腹胀以及不明原因纳差的诊断率之间的差异无统计学意义(表3)。

2.3.2 小肠镜和CT对不同疾病的诊断准确率比较: 共有91例患者同时接受小肠镜和CT检查并经过了病理证实, 其中89例的小肠镜诊断与病理诊断一致, 而仅44例CT结果与病理诊断一致, 小肠镜的诊断准确率显著高于CT且差异有统计学意义($P<0.05$)。病理证实的炎性病变共61例, 包括非特异性炎症39例, 克罗恩病11例, 小肠多发溃疡7例, 小肠结核3例以及小肠淋巴管扩张1例。小肠镜对非特异性炎症等炎性病变的诊断准确率高于CT($P<0.05$)。17例息肉或肿瘤

性病变包括息肉6例, 间质瘤5例, 淋巴瘤4例, 平滑肌瘤1例, 腺瘤1例。小肠镜和CT对小肠息肉或肿瘤的诊断率准确率分别为88.2%(15/17)和76.5%(13/17); 对血管性病变的诊断准确率分别为100.0%(6/6)和33.3%(2/6); 对小肠憩室的诊断准确率分别为100.0%(6/6)和0%(0/6), 但以上差异均无统计学意义(表4)。

3 讨论

电子小肠镜包括双气囊和单气囊电子小肠镜, 他们的先后问世使小肠疾病的诊断也由此有了引人注目的进展。与推进式小肠镜和其他传统诊断工具相比, 电子小肠镜在进镜深度、活检、标记、止血、息肉切除、狭窄扩张、支架植入及异物取出(包括留滞的胶囊内镜)等诸多方面有显著优势^[3]。目前, 双气囊电子小肠镜被认为是小肠疾病非手术诊断的金标准^[4], 其对小肠疾病的整体诊断率达到60%-80%^[5-9]。同时, 包括小肠结肠CT双期扫描等形式在内的CT检查以往多用于实质性脏器疾病的诊断, 随着空间分辨率和时间分辨率显著改善, 现也已应用于各种空腔脏器包括小肠病变的诊断。文献报道CT对小肠疾病有一定的诊断价值, 能清晰反映肠壁和肠腔外的病变^[10,11], 但CT对不同性质病变的检出率和诊断率高低不等, 也缺乏其与小肠镜的对比分析。

所有疑诊小肠疾病中, 不明原因消化系出血仍是小肠镜最主要的检查适应证(60.6%, 103/170)。根据美国胃肠病学会(American Gastroenterology Association, AGA)的定义^[12], 不明原因消化系出血是指经过食管、胃、十二指肠镜检查、结肠镜检查、小肠放射学检查如小肠钡餐造影或小肠钡灌肠检查, 无明确病因的持续或者反复胃肠道出血。其余检查适应证依次为慢性腹痛、不完全性肠梗阻、慢性腹泻、慢

■应用要点

电子小肠镜对小肠疾病的定位、定性作用优势明显,同时小肠结肠CT双期扫描属无创性检查,本文为临床医师对小肠疾病的诊断提供了清晰的思路,即可联合以上二者对疑患小肠疾病者进行检查,这对于临床规范化处理小肠疾病尤其是不明原因消化系出血有一定指导意义。

表 4 91例病理证实病变中小肠镜与CT的诊断准确率比较 $n(\%)$

病理诊断	<i>n</i>	小肠镜	CT	<i>P</i> 值
炎性病变	61	61(100.0)	28(45.9)	<0.05
非特异性炎症	39	39(100.0)	16(41.0)	<0.05
克罗恩病 ¹	11	11(100.0)	6(54.5)	—
多发溃疡	7	7(100.0)	3(42.9)	—
结核	3	3(100.0)	3(100.0)	—
淋巴管扩张	1	1(100.0)	0(0)	—
息肉或肿瘤	17	15(88.2)	13(76.5)	>0.05
息肉 ²	6	6(100.0)	3(50.0)	—
间质瘤	5	4(80.0)	5(100.0)	—
淋巴瘤	4	3(75.0)	3(75.0)	—
平滑肌瘤	1	1(100.0)	1(100.0)	—
腺癌	1	1(100.0)	1(100.0)	—
血管性病变	6	6(100.0)	2(33.3)	—
憩室	6	6(100.0)	0(0)	—
粘连性肠梗阻	1	1(100.0)	1(100.0)	—
合计	91	89(97.8)	44(48.4)	<0.05

¹克罗恩病中有1例为同时合并白塞氏病; ²包括1例P-J综合征。

性腹胀以及不明原因纳差。170例患者的小肠镜阳性发现中,小肠炎性病变占63.2%,息肉或肿瘤15.1%,血管性病变9.2%,并且以上三种病变同样为不明原因消化系出血的三大阳性发现,这与国际上的大样本研究结果基本一致^[5]。炎性病变所占比例最大,内镜下发现的96例炎性病变有61例得到病理证实,包括非特异性炎症(39例)、克罗恩病(11例)、小肠多发溃疡(7例)、小肠结核(3例)以及小肠淋巴管扩张(1例)。

本研究中电子小肠镜对不明原因消化系出血的病变检出率达到了95.1%(98/103),高于国内外其他研究结果^[6-8,13,14]。这可能与内镜下行全小肠检查的比例高低有关,亦受不同内镜中心对小肠镜检查适应证把握不同的影响。一项收集了1000例以上病例的系统评价显示其汇总的内镜下全小肠检查率为44.0%^[5],而我院经小肠镜行全小肠检查的比例达60.6%,明显高于文献报道水平,并且接受小肠镜检查的患者均已经通过常规胃镜、结肠镜检查排除了小肠以外部位的病变,因此小肠镜的病变检出率较高。同时,本研究中电子小肠镜对不明原因消化系出血的诊断率为68.9%(71/103)。但CT对不明原因消化系出血的病变检出率(52.6%, 41/78)和诊断率(21.8%, 17/78)均较低,原因可能为CT对较小出血灶尤其是炎性病变出血的敏感性较低,而后者正是导致消化系出血的最主要病因。本研究共纳入病例170例,同时研究电子小

肠镜(包括双气囊、单气囊小肠镜)和CT对小肠疾病的病变检出率和诊断率,CT的病变检出率为63.6%(82/129),诊断率为34.9%(45/129);小肠镜的病变检出率为89.4%(152/170),诊断率为67.6%(115/170),均高于CT,二者差异均有统计学意义($P<0.05$)。陈李华等^[15]对70例病例的研究结果与本研究一致。结合小肠镜对不明原因消化系出血的病变检出率和诊断率,本研究充分证实了电子小肠镜在小肠疾病尤其是不明原因消化系出血的病变检出和诊断方面的优势。这与小肠镜对小肠黏膜的观察更直观、清晰,可以通过控制镜身对可疑部位反复观察,尤其对可疑病变能够通过活检获得病理学诊断有直接关系。

国内鲜有报道CT对小肠炎性病变的诊断能力,本组经病理证实的病例中,小肠镜对炎性病变的诊断准确率远大于CT(100.0% vs 45.9%, $P<0.05$),可见小肠镜对炎性病变的确诊能力优于后者。对于小肠息肉或肿瘤,小肠镜和CT的诊断率准确率分别为88.2%和76.5%($P>0.05$)。

此外,通过对比小肠镜和CT检查结果与病理诊断的符合情况,不难发现在经病理证实的病例中,小肠镜有着很高的诊断准确率而CT却表现出较高的假阴性率,尤其在小肠炎性病变中,仅有45.9%的CT结果与病理诊断相符。这也提醒我们对于CT结果阴性的病例,并不能据此完全排除小肠病变。

■名词解释

不明原因消化系出血(OGIB):指经过食管、胃、十二指肠镜检查、结肠镜检查、小肠放射学检查如小肠钡餐造影或小肠钡灌肠检查,无明确病因的持续或者反复胃肠道出血。

虽然小肠镜较CT有更高的病变检出率和诊断率, 但存在检查有创、费用较高等不足, 而后者安全、无创、经济, 临床上仍将其广泛应用于小肠疾病的诊断。而且CT能够发现小肠壁及肠外的病变情况, 尽管其对小肠肿瘤的检出和诊断能力受肿瘤直径和类型的影响, 但仍有研究建议联合增强CT与内镜手段以获得满意的诊断效果^[9]。

总之, 电子小肠镜对小肠疾病有较高的病变检出率和诊断率, 尤其在不明原因消化系出血的诊断方面更具优势, 可作为小肠疾病的主要检查方式。CT因其检查的安全、无创性以及临床的广泛应用, 可作为小肠疾病的初步筛查手段。但电子小肠镜对小肠病变的定位、定性作用优势明显, 因此我们建议对疑患小肠疾病的患者进行联合检查。

4 参考文献

- Leighton JA. The role of endoscopic imaging of the small bowel in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 27-36; quiz 37 [PMID: 20978483 DOI: 10.1038/ajg.2010.410]
- Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- Yamamoto H, Kita H, Sunada K, Hayashi Y, Sato H, Yano T, Iwamoto M, Sekine Y, Miyata T, Kuno A, Ajibe H, Ido K, Sugano K. Clinical outcomes of double-balloon endoscopy for the diagnosis and treatment of small-intestinal diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1010-1016 [PMID: 15551254 DOI: 10.1016/s1542-3565(04)00453-7]
- May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]
- Xin L, Liao Z, Jiang YP, Li ZS. Indications, detectability, positive findings, total enteroscopy, and complications of diagnostic double-balloon endoscopy: a systematic review of data over the first decade of use. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 563-570 [PMID: 21620401 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1239]
- Tanaka S, Mitsui K, Yamada Y, Ehara A, Kobayashi T, Seo T, Tatsuguchi A, Fujimori S, Gudis K, Sakamoto C. Diagnostic yield of double-balloon endoscopy in patients with obscure GI bleeding. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 683-691 [PMID: 18561920 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1062]
- Sun B, Rajan E, Cheng S, Shen R, Zhang C, Zhang S, Wu Y, Zhong J. Diagnostic yield and therapeutic impact of double-balloon enteroscopy in a large cohort of patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2011-2015 [PMID: 16848814 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00664.x]
- Heine GD, Hadithi M, Groenen MJ, Kuipers EJ, Jacobs MA, Mulder CJ. Double-balloon enteroscopy: indications, diagnostic yield, and complications in a series of 275 patients with suspected small-bowel disease. *Endoscopy* 2006; 38: 42-48 [PMID: 16429354 DOI: 10.1055/s-2005-921188]
- Honda W, Ohmiya N, Hirooka Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohno E, Kawashima H, Itoh A, Watanabe O, Ando T, Goto H. Enteroscopic and radiologic diagnoses, treatment, and prognoses of small-bowel tumors. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 344-354 [PMID: 22817787 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.443]
- Amitai MM, Arazi-Kleinman T, Hertz M, Apter S, Portnoy O, Guranda L, Chowder Y, Avidan B. Multislice CT compared to small bowel follow-through in the evaluation of patients with Crohn disease. *Clin Imaging* 2008; 32: 355-361 [PMID: 18760722 DOI: 10.1016/j.clinimag.2008.01.025]
- Anzidei M, Napoli A, Zini C, Kirchin MA, Catalano C, Passariello R. Malignant tumours of the small intestine: a review of histopathology, multidetector CT and MRI aspects. *Br J Radiol* 2011; 84: 677-690 [PMID: 21586504 DOI: 10.1259/bjr/20673379]
- Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]
- Hsu CM, Chiu CT, Su MY, Lin WP, Chen PC, Chen CH. The outcome assessment of double-balloon enteroscopy for diagnosing and managing patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 162-166 [PMID: 17160468 DOI: 10.1007/s10620-006-9554-x]
- 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 510-512
- 陈李华, 曹海军, 章宏, 单国栋, 张冰凌, 姜玲玲, 李霖, 陈洪潭, 方英, 程瑛, 吴忱姣, 厉有名. 双气囊小肠镜与腹部CT在小肠疾病诊断中的临床价值. *中华医学杂志* 2008; 88: 3305-3308

同行评价

本文较新颖, 具有一定创新性和可读性, 能较好地反映我国胃肠病学临床的先进水平。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用

苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成

■背景资料

非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)所引起的消化性溃疡的临床发生机制常为服用NSAIDs过多, 直接刺激胃黏膜分泌较多胃酸, 最终对胃黏膜的破坏程度大于其自身的修复程度, 导致胃黏膜损伤出现溃疡, 在中老年人中发病率较高, 降低了患者生活质量。

苗凤英, 张福成, 中国人民解放军空军总医院药学部 北京市 100142

李彦飞, 步晓华, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142

苗凤英, 主要从事药理学的相关研究。

作者贡献分布: 此研究由苗凤英、李彦飞、步晓华及张福成共同设计完成; 研究过程由李彦飞与步晓华完成; 研究使用的药品由苗凤英提供; 数据分析与论文写作由苗凤英、李彦飞及步晓华共同完成; 张福成负责指导与文章修改。

通讯作者: 苗凤英, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院药学部, miaofengying@yahoo.cn

收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-11-07

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2013-12-28

Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer

Feng-Ying Miao, Yan-Fei Li, Xiao-Hua Bu, Fu-Cheng Zhang

Feng-Ying Miao, Fu-Cheng Zhang, Department of Pharmacy, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100142, China

Yan-Fei Li, Xiao-Hua Bu, Department of Gastroenterology, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100142, China

Correspondence to: Feng-Ying Miao, Department of Pharmacy, Air General Hospital of Chinese People's Liberation Army, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. miaofengying@yahoo.cn

Received: 2013-10-18 Revised: 2013-11-07

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To assess the effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer.

METHODS: One hundred and eighty-four patients with NSAIDs associated peptic ulcer (NSAIDs use ≥ 4 wk) were divided into an observation group (amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules) and a control group (placebo combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules), with 92 patients in each group. Each cycle consisted of 4 weeks of continuous administration. Therapeutic results and clinical symptoms were recorded,

and bleeding events and adverse reactions were also recorded in the follow-up period.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (97.8% vs 90.2%, $\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$). The time to remission of gastric pain also differed between the two groups ($2.9 \text{ d} \pm 1.1 \text{ d}$ vs $4.3 \text{ d} \pm 1.6 \text{ d}$, $t = 6.916$, $P < 0.05$). The rates of gastrointestinal bleeding events at 6 mo and 1 year in the observation group were significantly lower than those in the control group (5.4% vs 14.1%, 8.7% vs 22.8%, $\chi^2 = 4.301$, 7.491, both $P < 0.05$). No adverse reactions were found in both groups.

CONCLUSION: Amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules is effective and safe in the treatment of NSAIDs associated peptic ulcer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Amoxicillin; Rabeprazole sodium enteric-coated capsules; NSAIDs associated peptic ulcer

Miao FY, Li YF, Bu XH, Zhang FC. Clinical effects of amoxicillin combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules for NSAIDs associated peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4200-4203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4200.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4200>

摘要

目的: 对阿莫西林联合雷贝拉唑在非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关性溃疡治疗中的作用进行探讨。

方法: 选取服用NSAIDs ≥ 4 wk且经胃镜确诊为NSAIDs相关性溃疡的患者184例, 随机分为观察组(阿莫西林+雷贝拉唑钠肠溶胶囊)92例和对照组(安慰剂+雷贝拉唑钠肠溶胶囊)92例, 治疗4 wk为1个疗程。对患者治疗结果和临床症状缓解情况进行统计, 并随访记录患者消化系统出血事件和不良反应发生情况。

结果: 观察组的总有效率为97.8%, 显著高于

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

对照组(90.2%), 差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604, P < 0.05$). 腹痛缓解时间观察组与对照组分别为 $2.9 \text{ d} \pm 1.1 \text{ d}$ 和 $4.3 \text{ d} \pm 1.6 \text{ d}$, 观察组明显优于对照组, 组间差异具有统计学意义($t = 6.916, P < 0.05$). 观察组患者随访6 mo、1年的消化系出血事件发生率分别为5.4%和8.7%, 显著低于对照组(14.1%和22.8%), 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.301, 7.491, P < 0.05$). 两组患者在治疗和随访过程中均无大出血等不良反应的发生, 肝肾功能无影响.

结论: 阿莫西林联合雷贝拉唑钠在治疗NSAIDs相关消化性溃疡中, 起效时间快, 安全有效, 值得临床推广.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 阿莫西林; 济诺(雷贝拉唑钠肠溶胶囊); 非甾体类消炎药相关性溃疡

核心提示: 采用阿莫西林联合雷贝拉唑对非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs)引起的消化性溃疡进行治疗, 患者痊愈率高, 疗效显著, 治疗后半年内以及1年内的消化系出血发生率显著低于单用质子泵抑制剂组, 且安全无不良反应, 有效改善患者的生活质量.

苗凤英, 李彦飞, 步晓华, 张福成. 阿莫西林联合雷贝拉唑在NSAIDs相关性溃疡治疗中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4200–4203 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4200.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4200>

0 引言

消化性溃疡是一种消化性疾病且往往因胃酸过多而引起, 幽门螺旋杆菌感染和非甾体类消炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)的服用也是消化性溃疡的重要发病因素^[1]. 其中NSAIDs会减少前列腺素(prostaglandin, PG)的合成导致屏障功能减弱, 并透过胃肠道黏膜上皮细胞进入胞体内电离出 H^+ , 破坏细胞黏膜, 从而导致炎症反应和溃疡的形成^[2-4]. 特别在大剂量服用的老年患者以及药物依赖性患者中更易发生^[5]. 我们采用阿莫西林联合雷贝拉唑对NSAIDs引起的消化性溃疡进行治疗, 效果较好, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-01/2012-04消化性溃疡患者共184例. 所有患者均有长期NSAIDs服用

史(服用时间 $\geq 4 \text{ wk}$), 并经胃镜镜检与活组织检测确诊为NSAIDs相关性溃疡. 其中男126例, 女58例, 年龄33-73岁, 平均年龄 $43 \text{ 岁} \pm 5.6 \text{ 岁}$. 根据随机数字表法将其分为观察组与对照组各92例. 观察组中男62例, 女30例, 平均年龄为 $41 \text{ 岁} \pm 1.7 \text{ 岁}$, 其中曾服用非选择性NSAIDs 71例, 环氧合酶-2选择性NSAIDs 21例; 对照组中男59例, 女33例, 平均年龄 $43 \text{ 岁} \pm 1.7 \text{ 岁}$, 其中曾服用非选择性NSAIDs 71例, 环氧合酶-2选择性NSAIDs 21例; 所有患者均排除妊娠哺乳期妇女, 排除合并糖尿病、高血压、冠心病、房颤、慢性阻塞性肺疾病或严重肝肾功能不全者, 排除曾施行消化系手术患者, 排除有药物过敏史者或伴血液疾病者, 排除临床上需长期使用质子泵抑制剂类药物进行治疗的消化性溃疡患者. 两组患者在性别、年龄、服用NSAIDs的种类、黏膜损伤部位、损伤程度上差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均停止服用NSAIDs, 治疗之前均做青霉素皮试, 无过敏者. 对照组患者采用济诺(雷贝拉唑钠肠溶胶囊, 江苏济川制药有限公司)进行治疗, 口服 20 mg/次 , 1 次/d , 于清晨空腹整粒吞服, 餐后口服安慰剂胶囊, 2 粒/次 , 3 次/d . 观察组患者服用济诺, 用量同对照组, 餐后服用阿莫西林胶囊(沈阳药业股份有限公司, 0.25 g/粒), 2 粒/次 , 3 次/d . 两组患者均 4 wk 为1个疗程. 连续观察至止血 24 h 以上. 1 mo 后行胃镜检查, 所有患者均随访1年对消化系出血情况进行监测和统计.

1.2.2 观察指标: (1)对两组患者治疗前后肝肾功能情况进行常规检测, 记录不良反应; (2)对患者临床症状进行观察和分析; (3)连续胃镜检查患者临床痊愈情况. 当患者溃疡愈合或瘢痕消失, 且炎症情况消失则判为痊愈; 患者溃疡愈合、瘢痕消失, 周围炎症明显好转则判为显效; 患者溃疡面积缩小50%及以上, 周围炎症有所好转则判为有效; 患者溃疡面积缩小不到50%或无变化, 周围炎症无好转甚至加重, 则判为无效. 其中痊愈、显效、有效统计为总有效.

统计学处理 采用SPSS18.0软件包进行统计学分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 并采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 观察组中经治疗痊

■研发前沿

随着NSAIDs的应用越来越广泛, 对患者胃肠黏膜的损害成为该类药物的主要不良反应, NSAIDs类消化性溃疡幽门螺旋杆菌的感染率较高, 而幽门螺旋杆菌可对多种抗菌药物耐药, 较难根治, 单联药物往往难以奏效, 需多联药物进行治疗.

■相关报道

目前多数人认为胃酸过多仍是NSAIDs消化性溃疡的主要原因, 且多表现为消化系出血, 目前治疗主要以单纯的质子泵抑制剂进行抑酸治疗为主, 必要时添加胃黏膜保护剂, 该方法对于减少消化系出血有一定的作用, 但整体根治率较低.

■创新盘点

本研究采用质子泵抑制剂和 β -内酰胺类抗生素治疗NSAIDs消化性溃疡,在对胃酸进行抑制的同时,对消化系中可能存在的幽门螺杆菌进行杀灭,协同作用,维持消化系内的菌群平衡,疗效较好,患者复发率低。

表 1 两组患者胃镜下疗效比较($n = 92$)

分组	痊愈	显效	有效	无效	痊愈率(%)	总有效率(%)
观察组	45	36	9	2	48.9	97.8 ^a
对照组	32	40	11	9	34.8	90.2

$\chi^2 = 4.604$, ^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 2 两组患者腹痛缓解情况和随访消化系出血情况比较($n = 92$)

分组	腹痛缓解时间 (d)	消化系出血n(%)		
		3 mo	6 mo	1年
观察组	2.9 ± 1.1	3(3.3)	5(5.4)	8(8.7)
对照组	4.3 ± 1.6	8(8.7)	13(14.1)	21(22.8)
t/χ^2 值	6.916	2.533	4.301	7.491
P 值	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

愈45例,痊愈率48.9%,总有效率97.8%。高于对照组痊愈率34.8%(32/92),总有效率90.2%。观察组的总有效率显著高于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者腹痛缓解情况和随访出血事件发生情况 观察组与对照组腹痛缓解时间分别为2.9 d ± 1.1 d和4.3 d ± 1.6 d,观察组腹痛缓解明显较对照组快,且差异具有统计学意义($t = 6.916$, $P < 0.05$)。观察组患者随访3、6 mo和1年的消化系出血发生率分别为3.3%、5.4%和8.7%,观察组患者随访3、6 mo和1年的消化系出血发生率分别为8.7%、14.1%和22.8%,观察组患者随访6 mo和1年的消化系出血发生率均显著低于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.301$ 、7.491, $P < 0.05$)(表2)。

2.3 不良反应发生情况 两组患者均顺利治疗并完成随访,治疗中和治疗后均无大出血等不良反应的发生,常规观测肝肾情况,与治疗前相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

消化性溃疡的临床发生机制常为胃黏膜的破坏程度大于其自身的修复程度,超出了其防御水平所导致^[6]。NSAIDs所引起的消化性溃疡也同样具有酸依赖性的特点。他主要通过对胃肠道黏膜上皮的损害而产生作用。透过上皮细胞进入胞体内抑制了环氧合酶-1的合成,进而减少了胃黏膜中具有保护作用的PG。解离出大量的 H^+ ,造成胃酸过多的同时影响细胞代谢,从而使得胃黏膜发生损伤^[7,8]。同时,他的代谢毒性破坏了

细胞间的完整性,增大细胞膜通透性增加了炎性蛋白分子,促进了胃黏膜的糜烂和溃疡形成。脑肠相互作用机制受到酸的刺激后大脑信号增强,产生高敏症状,从而导致腹痛、消化不良、恶心等临床症状^[9]。

雷贝拉唑是近年来较新一代质子泵抑制剂,通过抑制胃壁细胞中 H^+-K^+-ATP 酶的活性从而抑制因刺激引起的胃酸分泌,使溃疡受损部位得到缓解,减轻对胃黏膜的破坏,影响神经末梢的感觉信息传入,从而影响肠道动力^[10,11]。临床已有大量研究证明质子泵抑制剂是治疗溃疡的有效方法^[12]。阿莫西林适用于溶血链球菌、肺炎链球菌、葡萄球菌、流感嗜血杆菌、大肠埃希菌、幽门螺杆菌等引起的各类感染^[13,14]。虽然传统学说认为消化性溃疡是由胃酸与胃蛋白酶导致胃肠的防御菌群不平衡所致,但近年来有研究表明,大约80%以上的胃溃疡和十二指肠溃疡均由幽门螺杆菌感染所致,而阿莫西林与质子泵抑制剂联合治疗可根除85%的幽门螺杆菌,且用药4 wk根除效果较好^[15]。

在本次研究中,观察组的总有效率为97.8%,显著高于对照组(90.2%),差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.604$, $P < 0.05$)。观察组与对照组腹痛缓解时间分别为2.9 d ± 1.1 d和4.3 d ± 1.6 d,观察组腹痛缓解明显较对照组快,间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。在随访过程中,随访6 mo和1年消化系出血事件的发生率观察组均少于对照组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者在治疗和随访过程中均无大出血等不良反应的发生。

总之,济诺(雷贝拉唑)联合阿莫西林在治疗

■应用要点

雷贝拉唑联合阿莫西林在治疗NSAIDs相关消化性溃疡,症状缓解以及起效时间快,疗效显著,治疗后半年及1年内消化系出血发生率低,有效降低细菌耐药率,且患者无明显不良反应以及并发症,值得临床推广使用。

NSAIDs相关消化性溃疡中, 症状缓解起效时间明显优于雷贝拉唑联合安慰剂组, 且安全有效, 值得推广使用。

4 参考文献

- 1 吴春城, 杜志毅, 谢会忠. 非甾体抗炎药和幽门螺杆菌感染与消化性溃疡发病的关系. 中国医药 2011; 6: 1363-1365
- 2 陈樵. 非甾体类消炎药导致消化道溃疡伴出血临床研究. 中国现代药物应用 2012; 6: 7-8
- 3 赵青山. 上消化道溃疡伴出血患者危险因素分析. 岭南急诊医学杂志 2013; 18: 275-276
- 4 Morgner A, Miehke S, Labenz J. Esomeprazole: prevention and treatment of NSAID-induced symptoms and ulcers. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 975-988 [PMID: 17472543 DOI: 10.1517/14656566.8.7.975]
- 5 Yeomans ND, Naesdal J. Systematic review: ulcer definition in NSAID ulcer prevention trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 465-472 [PMID: 18194499 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03610]
- 6 Leontiadis GI, Sreedharan A, Dorward S, Barton P, Delaney B, Howden CW, Orhewere M, Gisbert J, Sharma VK, Rostom A, Moayyedi P, Forman D. Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. *Health Tech-nol Assess* 2007; 11: iii-iv, 1-164 [PMID: 18021578]
- 7 Jones R, Rubin G, Berenbaum F, Scheiman J. Gastrointestinal and cardiovascular risks of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 2008; 121: 464-474 [PMID: 18501223 DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.01.045]
- 8 曾云. 奥美拉唑与泮托拉唑治疗消化道溃疡出血的比较. 贵阳医学院学报 2008; 33: 282-283, 286
- 9 Rao SS. Advances in diagnostic assessment of fecal incontinence and dyssynergic defecation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 910-919 [PMID: 20601142 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.06.004]
- 10 王莉, 邹晓平, 曹俊, 田颀. 雷贝拉唑抑制大鼠胃壁细胞泌酸功能的机制研究. 中华消化杂志 2008; 28: 617-620
- 11 刘莉, 王芳, 洪喆, 吴琦, 於健. 以雷贝拉唑和兰索拉唑为基础的三联疗法治疗复发性消化性溃疡的疗效比较. 中国临床医学 2010; 17: 513-514
- 12 上海市医学会消化分会胃肠动力学组. 多中心临床观察雷贝拉唑联合多潘立酮治疗胃食管反流病的症状缓解情况. 中华消化杂志 2011; 31: 761-765
- 13 何明顺, 漆红, 李志. 四联疗法治疗幽门螺杆菌阳性十二指肠球部溃疡疗效观察. 中华全科医学 2011; 13: 1163-1164
- 14 柯金珍, 郑建伟, 张志阳, 陈雅真. 阿莫西林与阿莫西林双氯西林钠对幽门螺杆菌根治的对照研究. 中国临床药理学杂志 2013; 29: 106-108
- 15 刘北京, 朱铭. 雷贝拉唑联合阿莫西林治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡并出血疗效观察. 中国基层医药 2010; 17: 397-398

■同行评价

本文对临床应用具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



MLH1基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖

■背景资料

DNA错配修复基因的失活被认为是结直肠癌发生的一种重要发病机制, Mutl homolog1(*MLH1*)基因是DNA错配修复基因的主要基因, 其启动子的甲基化对于结直肠癌的发生和发展起重要作用。但我国少有这方面的研究在证实这方面的关系。

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

曾锦荣, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤早期诊断和治疗方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由曾锦荣与陈晖共同设计完成; 文献检索由曾锦荣与莫林芳完成; 数据采集由曾锦荣与莫林芳完成; 数据分析由曾锦荣与阮族明完成; 论文写作由曾锦荣与陈晖完成。

通讯作者: 陈晖, 副主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科。chenhui680804@163.com

电话: 0771-5356596

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-11-13 在线出版日期: 2013-12-28

Relationship between *MLH1* promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis

Jin-Rong Zeng, Zu-Ming Ruan, Lin-Fang Mo, Hui Chen

Jin-Rong Zeng, Zu-Ming Ruan, Lin-Fang Mo, Hui Chen, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Hui Chen, Associate Chief Physician, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. chenhui680804@163.com

Received: 2013-09-18 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-11-13 Published online: 2013-12-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between mutL homolog 1 (*MLH1*) promoter hypermethylation and colorectal cancer (CRC).

METHODS: Relevant trials were identified by searching electronic databases including PubMed, Embase, Web of Science, Cochrane Library, CBM, CNKI, WANGFANG and VIP database updated to July 2013. The English search terms included *MLH1*, mutL homolog 1, promoter methylation, colon cancer and CRC, and the Chinese search terms included *MLH1* gene promoter methylation and colorectal cancer. Stata11.0 software was used for statistical analysis.

RESULTS: A total of 11 articles involving 1496 CRC cases and 382 controls were analyzed in the

study. Statistically significant odds ratios (OR) of *MLH1* promoter methylation were obtained between total cases and controls (OR = 7.863, 95%CI: 4.537-13.627, $P < 0.05$), between tumor tissues of CRC patients and those of healthy persons (OR = 8.246, 95%CI: 3.522-19.307, $P < 0.05$), and between tumor tissues and non-tumorous tissues of CRC patients (OR = 7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$).

CONCLUSION: *MLH1* promoter hypermethylation may contribute to the development of colon cancer and has appreciated value in the diagnosis of this malignancy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *MLH1* promotor; Methylation; Colon cancer; Meta-analysis

Zeng JR, Ruan ZM, Mo LF, Chen H. Relationship between *MLH1* promoter methylation and colorectal cancer: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(36): 4204-4209 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4204>

摘要

目的: 探讨Mutl homolog1(*MLH1*)基因启动子甲基化对结肠癌(colorectal cancer, CRC)的影响。

方法: 以*MLH1*、Mutl homolog1、promoter methylation、Colon cancer、CRC为英文检索词, *MLH1*基因启动子甲基化、结直肠癌为中文检索词, 在Pubmed、Web of science、Embase、Cochrane Library、中国生物医学文献数据库、清华同方数据库、万方数据库及维普数据库收集截止至2013-08-01有关于研究*MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌关系的文献, 应用Stata11.0软件对符合条件的研究结果进行统计分析。

结果: 符合纳入标准的共11篇文献, 包含有结肠癌患者1496例, 对照382例。数据合并结果显示: *MLH1*基因启动子甲基化在总病例组和总对照组的比值比(odds ratios, OR)为7.863, 95%

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

的可信区间(95%CI): 4.537-13.627, $P < 0.05$. 病例组和健康人组的OR = 8.246, 95%CI为3.522-19.307, $P < 0.05$. 病例组和非癌组的OR为7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$.

结论: *MLH1*基因甲基化和结肠癌的发生可能有密切关系, 在结肠癌的诊治中有一定的价值.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *MLH1*启动子; 甲基化; 结直肠癌; Meta分析

核心提示: 不论是总的对照组, 或是对照组中的癌旁组织、健康人组织, 结肠癌的Mutl homolog1(*MLH1*)基因启动子甲基化数目都大于对照组. 证实了*MLH1*基因启动子的甲基化和结肠癌的发生可能存在密切相关.

曾锦荣, 阮族明, 莫林芳, 陈晖. *MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌关系的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4204-4209
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4204.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i36.4204>

0 引言

结肠癌(colorectal cancer, CRC)在全世界具有高发病率, 尤其在西方发达国家, 其发病率位居肿瘤第2位. 世界范围内, 结肠癌的发病率居男性恶性肿瘤的第3位, 女性发病率仅次于乳腺癌, 居第2位^[1]. 虽然我国结肠癌发病率远低于欧美等发达国家地区. 但近年来, 尤其是我国的大城市地区, 发病率明显上升, 且发病年轻化^[2]. 结肠癌的发生发展是一个多步骤、多阶段及多基因参与的复杂过程. 结肠癌的病因至今还不是很明确, 但结肠癌的发生可认为三大原因: 第一是非典型增生; 第二是微卫星不稳定; 第三是基因异常甲基化^[3]. 第三种原因占了所有原因30%, 且被认为是后天逐渐发展形成的. 近年研究表明, Mutl homolog1(*MLH1*)基因是DNA错配修复基因的重要组成部分^[4], *MLH1*基因启动子甲基化后, 导致DNA错配修复基因的失活, 使得错配的基因不能得到及时的修复, 导致基因突变, 进而导致结直肠癌的发生^[5,6]. 该机制被认为是结直肠癌的一种重要发病机制, 尤其见于遗传性非息肉型结肠癌. 但Lee研究认为, *MLH1*基因启动子的甲基化和结肠癌无明显关联^[7]. Bai等^[8]、Psosfaki等^[9]研究发现*MLH1*基因在腺瘤中仅低水平甲基化. 故本研究针对*MLH1*基因启动子甲基

化和结肠癌的关系进行了Meta分析.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Pubmed、Web of science、Embase、中国生物医学文献数据库、清华同方数据库、万方数据库及维普数据库, 英文检索词包括*MLH1*、Mutl homolog1、promoter methylation、Colon cancer、CRC, 中文检索词包括*MLH1*基因启动子甲基化、结直肠癌. 所有文章的搜索不设时间限制, 截止时间为2013-08-01. 为避免漏查, 对检索到文章中的参考文献进行补充检索.

1.2 方法

1.2.1 文章的纳入标准: (1)必须是以人为研究对象、*MLH1*基因启动子甲基化和结直肠癌的关系为研究对象; (2)必须有病例组和对照组; (3)研究所用的标本为结直肠黏膜组织; (4)能获得全文且有综合的统计指标: 有效率的比值比(odds ratios, OR). 剔除标准: (1)病例组中没有*MLH1*基因启动子甲基化和非甲基化, 或对照组中没有*MLH1*基因启动子甲基化和非甲基化的文章; (2)数据不全; (3)无法获取全文者.

1.2.2 数据提取: 作者, 文章发表年限, 实验方法, 原始四格表数据.

统计学处理 采用Stata11.0软件对资料进行统计分析. Meta分析之前, 先进行异质性检验分析, 若 $P > 0.1$, $I^2 < 50\%$, 表明异质性不明显, 则采用固定效应模型分析; 若 $P < 0.1$, $I^2 > 50\%$, 表明存在明显的异质性, 可采用随机效应模型估计合并效应量. 若异质性过于明显则需要对异质性的来源进行分析及敏感性分析. 计数资料的效应量表达采用OR值及95%CI, $P < 0.05$ 表示有统计学意义. 若纳入的文献达11篇以上, 则绘制漏斗图, 用以发表偏倚分析.

2 结果

2.1 文献检测结果 最初检测到的结果129篇文献, 最终纳入标准的共11篇. 11篇入选的文献中, 有2篇文章有肿瘤组织和癌旁组织对照研究, 有7篇文章是肿瘤组织和健康人组织对照研究, 有2篇文章是肿瘤组织和非肿瘤组织对照研究. 其中病例组结肠癌患者1496例, 对照组共382例, 健康人组织134例, 非健康人组织248例(表1).

2.2 *MLH1*基因甲基化和结肠癌的Meta分析结果

2.2.1 *MLH1*基因在总病例组和总对照组中的甲

■ 研发前沿

*MLH1*作为DNA错配修复基因的主要组成部分, 其基因的突变或甲基化, 均会导致细胞DNA错配修复功能的缺陷. 进而导致了结直肠癌的发生. 多项研究表明了, *MLH1*基因启动子甲基化对结直肠癌的发生、发展和转移都起重要作用.

■ 相关报道

美国国立综合癌症网络2013年发布的临床实践指南中指出, DNA错配修复基因(如*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*)突变和修饰会导致错配修复(mismatch repair, MMR)蛋白缺失. II期结肠癌患者中, MMR蛋白缺失是预后良好的标志. 专家组MMR蛋白检测应强烈建议在所有50岁以下的结肠癌患者中开展.

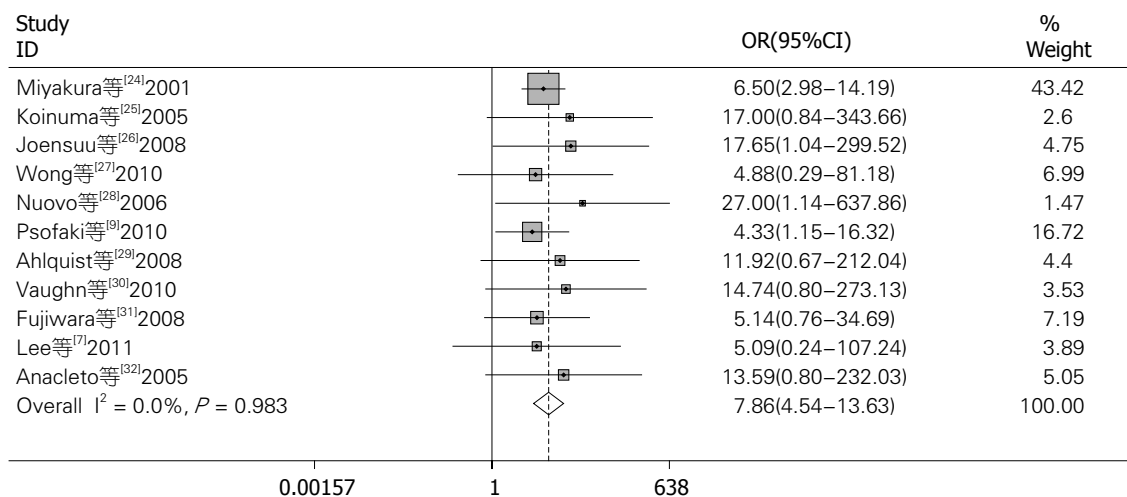
■创新盘点

近年来国内外对 *MLH1* 基因启动子甲基化和结肠癌的关系十分关注, 本研究采用 Meta 分析对近 20 年来已发表的有关 *MLH1* 基因启动子甲基化和结肠癌关系的研究文献进行综合分析, 对 *MLH1* 基因启动子甲基化在正常组织及非癌组织中表达差异进行评价, 并估计其危险值 OR, 为结肠直肠癌的诊断提供依据。

表 1 纳入文献的基本数据

文献编号	作者	发表时间	国家	CRC组/对照组	甲基化检测方法	tp	fn	fp	tn
1	Miyakura等 ^[24]	2001	日本	肿瘤/癌旁组织	PCR	40	48	10	78
2	Koinuma等 ^[25]	2005	日本	肿瘤/癌旁组织	COBRA	8	8	0	8
3	Joensuu等 ^[26]	2008	芬兰	肿瘤/正常组织	MSP	19	89	0	40
4	Wong等 ^[27]	2010	澳大利亚	肿瘤/正常组织	PCR	96	850	0	21
5	Nuovo等 ^[28]	2006	美国	肿瘤/正常组织	MSP	4	3	0	10
6	Psofaki等 ^[9]	2010	希腊	肿瘤/正常	MSP	13	7	6	14
7	Ahlquist等 ^[29]	2008	挪威	肿瘤/正常	MSP	11	41	0	21
8	Vaughn等 ^[30]	2010	美国	肿瘤/正常	MethyLight	11	19	0	12
9	Fujiwara等 ^[31]	2008	日本	肿瘤/正常	ABC	4	7	2	18
10	Lee等 ^[7]	2011	韩国	肿瘤/非肿瘤	MSP	2	110	0	112
11	Anacleto等 ^[32]	2005	巴西	肿瘤/非肿瘤	MSP	19	87	0	30

tp: 真阳性数; fn: 假阴性数; fp: 假阳性数; tn: 真阴性数; 非肿瘤: 包括了腺瘤、息肉等非癌组织。CRC结肠癌。COBRA: 结合重亚硫酸盐的限制性内切酶法; MSP: 甲基化特异性PCR; ABC: 过氧化物酶复合法。

图 1 *MLH1* 基因在总病例组和总对照组甲基化 Meta 分析结果森林图。

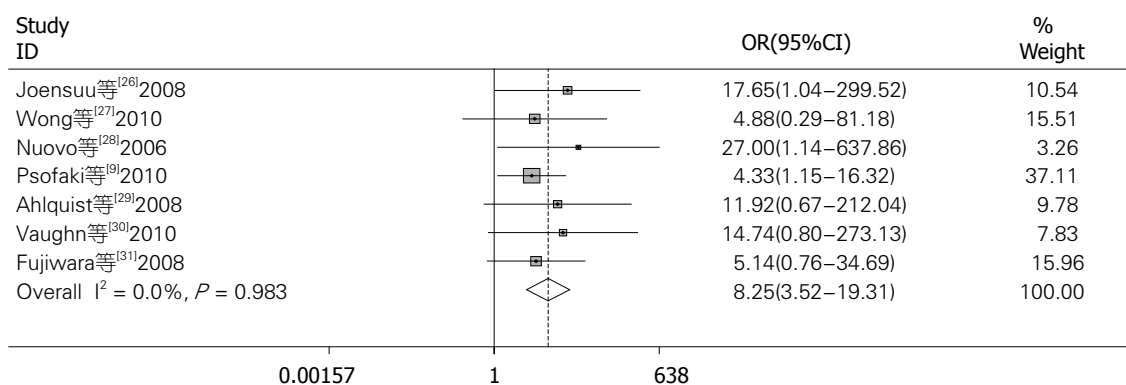
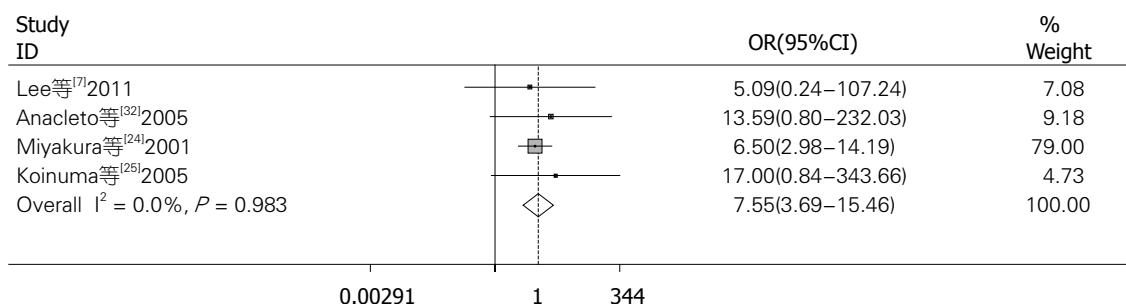
基化: 11个研究病例组和对照组对 *MLH1* 基因启动子甲基化与结肠癌的关系进行比较, 共有结肠癌患者1496例, 对照382例。其中有227例(15.17%)肿瘤组织和74例(4.71%)对照组发生甲基化。Meta分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.0\%$, $P > 0.05$, 不存在明显的异质性(图1), 采用固定效应模型分析: 得到合并的OR = 7.863, 95%CI: 4.537-13.627, $P < 0.05$ 两组间差异有统计学意义。

2.2.2 *MLH1* 基因在肿瘤组织和正常组织的甲基化: 7个研究实验组和对照组对 *MLH1* 甲基化与结肠癌的关系进行比较, 结肠癌组织1174例, 健康组织144例。其中有158例(13.46%)肿瘤组织和8例(5.56%)正常组织发生甲基化。Meta分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.00\%$, $P > 0.05$ (图2), 采用固定效应模型: 得到合并的OR = 8.246, 95%CI:

3.522-19.307, $P < 0.05$ 两组间的差别有统计学意义。

2.2.3 *MLH1* 基因在肿瘤组织和非健康人组织的甲基化: 4个研究实验组和对照组对 *MLH1* 甲基化与结肠癌的关系进行比较, 结肠癌肿瘤组织322例, 非健康人组织238例。其中有69例(21.43%)肿瘤组织和10例(4.20%)癌旁组织发生甲基化。Meta分析显示: 异质性结果 $I^2 = 0.0\%$, $P > 0.05$, 不存在明显的异质性, 采用固定效应模型分析: 得到合并的OR = 7.549, 95%CI: 3.685-15.464, $P < 0.05$ 两组间差异有统计学意义(图3)。

2.3 发表性偏倚估计 对本研究的11篇文章数据采用 Egger's test 方法进行发表性检测, $t = 2.16$, $P > 0.05$ 。显示本研究发表性偏倚较小, 结论较可靠。

图 2 *MLH1*基因在肿瘤组织和正常组织的甲基化Meta分析结果的森林图。图 3 *MLH1*基因在肿瘤组织和非健康人组织的甲基化Meta分析结果森林图。

3 讨论

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 随着近年来生活水平的提高, 饮食结构的改变, 其发病率逐年上升。由于结肠癌的高发病率和高致死率, 因此对于结肠癌的发病机制的研究具有重要意义。DNA错配修复基因的失活被认为是结直肠癌的一种重要发病机制^[10]。DNA错配修复系统由一系列特异性修复DNA碱基错配分子组成, 是人体修复DNA碱基错配的安全保障系统。DNA错配修复基因[主要是*MLH1*, MutS homolog 2(*MSH2*), *MSH6*, postmeiotic segregation increased 1(*PMS1*), *PMS2*]的突变或甲基化, 均会导致细胞DNA错配修复功能的缺陷, 产生遗传不稳定和肿瘤易感^[11]。*MLH1*基因是由19个外显子组成, 定位于3p21.3, 是DNA错配修复的主要基因, 在多种组织中均有表达。*MLH1*基因启动区是一个CPG岛高密度分布区, 这里极易产生甲基化作用, 启动区CPG岛的甲基化后, 引起*MLH1*基因的沉默, 导致了错配修复(mismatch repair, MMR)的失活, 进而导致结直肠的肿瘤的发生^[12-14]。近年来国内外对*MLH1*基因启动子甲基化对结肠癌的影响的研究较多, 但各研究的结果并不一致。国外Miyakura等^[15]的研究中提示了*MLH1*基因启动子甲基化是结直肠癌重要

发病机制。国内吉敏等^[16]研究也有同样观点。但是Lee等^[7]在韩国人中研究发现*hMSH2*和*MGMT*的CpG岛的甲基化和结直肠癌密切相关, 而不是*MLH1*基因。Bai等^[8]、Psofaki等^[9]研究发现*MLH1*基因在腺瘤中仅低水平甲基化。Kim等^[17]研究发现*MLH1*在腺瘤、腺癌、转移性肿瘤中并无明显区别。

本研究按询证医学设计的要求, 筛选出的11篇文章, 并以此为依据利用了Meta分析软件进行分析。为避免入选的文章存在异质性, 本研究对纳入的文章进行了发表性偏倚的估计, 结果显示本研究受发表性偏倚影响较小, 结论较可靠。对*MLH1*基因甲基化和结肠癌的关系荟萃分析, 结果显示: 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是对照组的7.863倍, 95%CI: 4.537-13.627, 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是正常组织的8.246倍, 95%CI: 3.522-19.307, 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 结肠癌病例组发生*MLH1*基因启动子甲基化的可能性是非健康人组织的7.549倍, 95%CI: 3.685-15.464, 两组间的差别有统计学意义($P < 0.05$)。以上结果表明, 不论是总的对照组, 或是对照组中的癌旁组织、健康人组织, 结肠

■应用要点

*MLH1*基因启动子甲基化在正常组织及非癌组织中表达具有显著差异, 和结肠癌的发生和发展有密切的关系, 所以对*MLH1*基因启动子甲基化进行检测, 对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。

■名词解释

DNA错配修复(MMR)系统是人体修复DNA碱基错配的安全保障体系,有一系列特异性错配修复基因组成(如*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*)。错配修复基因发生甲基化或突变,均会导致细胞的DNA错配修复功能缺陷,产生遗传不稳定和肿瘤易感。

癌的*MLH1*基因启动子甲基化数目都大于对照组。证实了*MLH1*基因启动子的甲基化和结肠癌的发生可能存在密切相关。

Meta分析本质上属于观察性研究,所收集的文献及在对文献的统计分析过程中,必然存在着偏倚,偏倚对Meta分析结果的真实性和可靠性有很大影响。关于*MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌的文章较少,本研究经过筛选后最终只有11篇文章入选,但发表性偏倚检测 $P>0.05$,提示发表性偏倚较小,结论较可靠。本研究纳入的文献均为英文文献,未检测出国内和其余外语的国家对于*MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌关系相类似的研究,这是本研究的局限性。且由于纳入的文献较少,无法对*MLH1*基因启动子甲基化是否在腺瘤和腺癌中存在差别及是否和肿瘤的转移和分期有关进行研究。另外,*MLH1*基因启动子甲基化受年龄、人种等因素影响^[18,19],及*MLH1*基因启动子甲基化可发生在多个基因位点,陶卫平等^[20]与Lipken等^[21]研究认为*MLH1*基因415G/C多态性会增加结肠癌的易感性,Al-lan等^[22]与Raptis等^[23]研究认为*MLH1*基因93G/A多态性会增加结直肠癌的发病风险。本文在文献检索时,没有收集到更多关于*MLH1*基因启动子相关位点多态性对结直肠癌的影响的文献,所以无法对*MLH1*启动子相关位点多态性对结直肠癌的影响进行进一步Meta的分析。以后更多相关文献报道后,可对年龄、人种等因素对*MLH1*基因启动子甲基化影响和不同位点多态性对结直肠癌的影响进行更深层次的研究。

总之,*MLH1*基因启动子甲基化和结肠癌的发生和发展有密切的关系,对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。随着甲基化技术的进步和检测水平的提高,Meta分析将对此做出更准确的评价,以指导临床运用。

4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.3322/canjclin.56.2.106]
- Fengju S, Guanglin W, Kexin C. Incidence of colon cancer in Tianjin, China, 1981-2000. *Asia Pac J Public Health* 2005; 17: 22-25 [PMID: 16044828 DOI: 10.1177/101053950501700106]
- Mirchev MB, Kahl P, Friedrichs N, Kotzev IA, Buettner R. DNA methylation in patients with colorectal cancer--correlation with some clinical and morphological features and with local tumour invasion. *Folia Med (Plovdiv)* 2010; 52: 22-30 [PMID: 20836393 DOI: 10.2478/v10153-010-0043-9]

- Auclair J, Vaissière T, Desseigne F, Lasset C, Bonadona V, Giraud S, Saurin JC, Joly MO, Leroux D, Faivre L, Audouyoud C, Montmain G, Ruano E, Herczeg Z, Puisieux A, Wang Q. Intensity-dependent constitutional *MLH1* promoter methylation leads to early onset of colorectal cancer by affecting both alleles. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 178-185 [PMID: 21213371 DOI: 10.1002/gcc.20842]
- Kuismanen SA, Holmberg MT, Salovaara R, Schweizer P, Aaltonen LA, de La Chapelle A, Nyström-Lahti M, Peltomäki P. Epigenetic phenotypes distinguish microsatellite-stable and -unstable colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12661-12666 [PMID: 10535979 DOI: 10.1073/pnas.96.22.12661]
- Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, Kim CY, Roche PC, Burgart LJ, Thibodeau SN. Hypermethylation of the *hMLH1* promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res* 1998; 58: 3455-3460 [PMID: 9699680]
- Lee KH, Lee JS, Nam JH, Choi C, Lee MC, Park CS, Juhng SW, Lee JH. Promoter methylation status of *hMLH1*, *hMSH2*, and *MGMT* genes in colorectal cancer associated with adenoma-carcinoma sequence. *Langenbecks Arch Surg* 2011; 396: 1017-1026 [PMID: 21706233 DOI: 10.1007/s00423-011-0812-9]
- Bai AH, Tong JH, To KF, Chan MW, Man EP, Lo KW, Lee JF, Sung JJ, Leung WK. Promoter hypermethylation of tumor-related genes in the progression of colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 2004; 112: 846-853 [PMID: 15386372 DOI: 10.1002/ijc.20485]
- Psafaki V, Kalogera C, Tzambouras N, Stephanou D, Tsianos E, Seferiadis K, Kolios G. Promoter methylation status of *hMLH1*, *MGMT*, and *CDKN2A/p16* in colorectal adenomas. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3553-3560 [PMID: 20653064 DOI: 10.3748/wjg.v16.i28.3553]
- Liu J, Albarracín CT, Chang KH, Thompson-Lanza JA, Zheng W, Gershenson DM, Broaddus R, Luthra R. Microsatellite instability and expression of *hMLH1* and *hMSH2* proteins in ovarian endometrioid cancer. *Mod Pathol* 2004; 17: 75-80 [PMID: 14631366 DOI: 10.1038/sj.modpathol.3800017]
- 陶卫平, 胡胜, 谢忆山, 蒋振旻. 错配修复基因*MLH1*突变与散发结肠癌易感性的研究. *中华实验外科杂志* 2009; 26: 752-754
- Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the *hMLH1* promoter correlates with lack of expression of *hMLH1* in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57: 808-811 [PMID: 9041175]
- 邢玉林, 皋岚湘, 高小玲. *MSI-H*单发性肠癌中*hMLH1*基因启动子甲基化测定在癌症临床诊断和早期治疗中的作用和意义. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 3731-3732
- Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, Markowitz S, Willson JK, Hamilton SR, Kinzler KW, Kane MF, Kolodner RD, Vogelstein B, Kunkel TA, Baylin SB. Incidence and functional consequences of *hMLH1* promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6870-6875 [PMID: 9618505 DOI: 10.1073/pnas.95.12.6870]
- Miyakura Y, Sugano K, Akasu T, Yoshida T, Maekawa M, Saitoh S, Sasaki H, Nomizu T, Konishi F, Fujita S, Moriya Y, Nagai H. Extensive but hemiallelic methylation of the *hMLH1* promoter

- region in early-onset sporadic colon cancers with microsatellite instability. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 147-156 [PMID: 15017620 DOI: 10.1016/S1542-3565(03)00314-8]
- 16 吉敏, 盛剑秋, 付蕾. 遗传性非息肉病性结直肠癌错配修复基因MLH1启动子甲基化研究. *胃肠病学和肝病杂志* 2008; 17: 291-293
 - 17 Kim YH, Petko Z, Dzieciatkowski S, Lin L, Ghiassi M, Stain S, Chapman WC, Washington MK, Willis J, Markowitz SD, Grady WM. CpG island methylation of genes accumulates during the adenoma progression step of the multistep pathogenesis of colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 781-789 [PMID: 16708352 DOI: 10.1002/gcc.20341]
 - 18 Schafmayer C, Buch S, Egberts JH, Franke A, Brosch M, El Sharawy A, Conring M, Koschnick M, Schwiedernoch S, Katalinic A, Kremer B, Fölsch UR, Krawczak M, Fändrich F, Schreiber S, Tepel J, Hampe J. Genetic investigation of DNA-repair pathway genes PMS2, MLH1, MSH2, MSH6, MUYH, OGG1 and MTH1 in sporadic colon cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 555-558 [PMID: 17417778 DOI: 10.1002/ijc.22735]
 - 19 Nakagawa H, Nuovo GJ, Zervos EE, Martin EW, Salovaara R, Aaltonen LA, de la Chapelle A. Age-related hypermethylation of the 5' region of MLH1 in normal colonic mucosa is associated with microsatellite-unstable colorectal cancer development. *Cancer Res* 2001; 61: 6991-6995 [PMID: 11585722]
 - 20 陶卫平, 胡胜, 冯觉平, 谢忆山. MLH1基因415G/C多态与结肠癌遗传易感性的关联研究. *中华医学遗传学杂志* 2009; 26: 317
 - 21 Lipkin SM, Rozek LS, Rennert G, Yang W, Chen PC, Hacia J, Hunt N, Shin B, Fodor S, Kokoris M, Greenson JK, Fearon E, Lynch H, Collins F, Gruber SB. The MLH1 D132H variant is associated with susceptibility to sporadic colorectal cancer. *Nat Genet* 2004; 36: 694-699 [PMID: 15184898 DOI: 10.1038/ng1374]
 - 22 Allan JM, Shorto J, Adlard J, Bury J, Coggins R, George R, Katory M, Quirke P, Richman S, Scott D, Scott K, Seymour M, Travis LB, Worrillow LJ, Bishop DT, Cox A. MLH1 -93G > A promoter polymorphism and risk of mismatch repair deficient colorectal cancer. *Int J Cancer* 2008; 123: 2456-2459 [PMID: 18712731 DOI: 10.1002/ijc.23770]
 - 23 Raptis S, Mrkonjic M, Green RC, Pethe VV, Monga N, Chan YM, Daftary D, Dicks E, Younghusband BH, Parfrey PS, Gallinger SS, McLaughlin JR, Knight JA, Bapat B. MLH1 -93G > A promoter polymorphism and the risk of microsatellite-unstable colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 463-474 [PMID: 17374836 DOI: 10.1093/jnci/djk095]
 - 24 Miyakura Y, Sugano K, Konishi F, Ichikawa A, Maekawa M, Shitoh K, Igarashi S, Kotake K, Koyama Y, Nagai H. Extensive methylation of hMLH1 promoter region predominates in proximal colon cancer with microsatellite instability. *Gastroenterology* 2001; 121: 1300-1309 [PMID: 11729109]
 - 25 Koinuma K, Kaneda R, Toyota M, Yamashita Y, Takada S, Choi YL, Wada T, Okada M, Konishi F, Nagai H, Mano H. Screening for genomic fragments that are methylated specifically in colorectal carcinoma with a methylated MLH1 promoter. *Carcinogenesis* 2005; 26: 2078-2085 [PMID: 16033773 DOI: 10.1093/carcin/bgi184]
 - 26 Joensuu EI, Abdel-Rahman WM, Ollikainen M, Ruosaari S, Knuutila S, Peltomäki P. Epigenetic signatures of familial cancer are characteristic of tumor type and family category. *Cancer Res* 2008; 68: 4597-4605 [PMID: 18559504 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6645]
 - 27 Wong JJ, Hawkins NJ, Ward RL, Hitchins MP. Methylation of the 3p22 region encompassing MLH1 is representative of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2011; 24: 396-411 [PMID: 21102416 DOI: 10.1038/modpathol.2010.212]
 - 28 Nuovo GJ, Nakagawa H, Sotamaa K, Chapelle Ade L. Hypermethylation of the MLH1 promoter with concomitant absence of transcript and protein occurs in small patches of crypt cells in unaffected mucosa from sporadic colorectal carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 2006; 15: 17-23 [PMID: 16531764]
 - 29 Ahlquist T, Lind GE, Costa VL, Meling GI, Vatn M, Hoff GS, Rognum TO, Skotheim RI, Thiis-Evensen E, Lothe RA. Gene methylation profiles of normal mucosa, and benign and malignant colorectal tumors identify early onset markers. *Mol Cancer* 2008; 7: 94 [PMID: 19117505 DOI: 10.1186/1476-4598-7-4]
 - 30 Vaughn CP, Wilson AR, Samowitz WS. Quantitative evaluation of CpG island methylation in hyperplastic polyps. *Mod Pathol* 2010; 23: 151-156 [PMID: 19855373 DOI: 10.1038/modpathol.2009.150]
 - 31 Fujiwara I, Yashiro M, Kubo N, Maeda K, Hirakawa K. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer is frequently associated with the microsatellite instability pathway. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1387-1394 [PMID: 18546042 DOI: 10.1007/s10350-008-9212-9]
 - 32 Anacleto C, Leopoldino AM, Rossi B, Soares FA, Lopes A, Rocha JC, Caballero O, Camargo AA, Simpson AJ, Pena SD. Colorectal cancer "methylator phenotype": fact or artifact? *Neoplasia* 2005; 7: 331-335 [PMID: 15967110 DOI: 10.1593/neo.04502]

同行评价

本文采取Meta分析的方法对*MLH1*基因启动子甲基化在结肠癌和非癌组织中表达的差异进行评价,对临床结肠癌的诊断和靶向治疗有临床指导意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅

■背景资料

肉瘤样肝细胞癌是一种少见的恶性肿瘤, 临床上表现不典型, 时有误诊的发生, 随着人们生活方式等改变, 近几年该病似有增多的趋势, 提高对该病的认识、准确诊断显得尤为重要。

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

高咏梅, 河北北方学院附属第一医院消化内科 河北省张家口市 075000

张文娟, 在读硕士, 主要从事肝病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文由张文娟撰写; 郭昱审校; 蒋树林指导临床治疗; 巩翠洁与高咏梅收集资料。

通讯作者: 郭昱, 副教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

guoyu123123@sina.com

电话: 0311-66002958

收稿日期: 2013-10-09 修回日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2013-12-28

Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report

Wen-Juan Zhang, Yu Guo, Shu-Lin Jiang, Cui-Jie Gong, Yong-Mei Gao

Wen-Juan Zhang, Yu Guo, Shu-Lin Jiang, Cui-Jie Gong, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Yong-Mei Gao, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu Guo, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. guoyu123123@sina.com

Received: 2013-10-09 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2013-12-28

Abstract

Sarcomatoid hepatocellular carcinoma is a rare malignant tumor, which lacks characteristic imaging and clinical manifestations and is easy to be misdiagnosed. Here we report a case of sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess, which was finally confirmed by pathology. A differential diagnosis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma should be based on combined laboratory tests and imaging results, not rely too much on imaging results. Liver biopsy should be performed as early as possible when necessary to avoid misdiagnosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver; Sarcomatoid carcinoma; Differ-

ential diagnosis

Zhang WJ, Guo Y, Jiang SL, Gong CJ, Gao YM. Sarcomatoid hepatocellular carcinoma resembling a liver abscess: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(36): 4210-4212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4210>

摘要

肉瘤样肝细胞癌是发生于肝脏的一种少见的恶性肿瘤, 影像学及临床表现缺乏特异性, 易造成误诊, 本例患者的临床及影像学表现均似肝脓肿, 最终病理证实为肉瘤样肝细胞癌。实际诊疗过程中不能过分依赖影像学结果, 充分结合实验室检查, 进行鉴别诊断, 必要时及早进行病理学检查, 避免误诊及延误病情。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝脏; 肉瘤样癌; 鉴别诊断

核心提示: 肉瘤样肝细胞癌是一种少见的恶性肿瘤, 表现不典型, 诊断困难, 国内仅有散在报道, 本病例与之前报道又有不同之处, 现对一酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌病例作一报道。

张文娟, 郭昱, 蒋树林, 巩翠洁, 高咏梅。酷似肝脓肿的肉瘤样肝细胞癌1例。世界华人消化杂志 2013; 21(36): 4210-4212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/4210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i36.4210>

0 引言

肉瘤样肝细胞癌是临床上一种少见的恶性肿瘤, 表现不典型, 诊断存在一定困难, 国内仅有散在报道, 本病例与之前报道又有不同之处, 临床及影像学表现极似肝脓肿, 现报道如下。

1 病例报告

女, 56岁, 主因食欲不振半个月, 发热、右上腹部疼痛3 d入院。查体: 生命体征平稳, 皮肤巩膜无黄染; 心肺查体未见异常; 腹平坦, 软, 无压痛、反跳痛及肌紧张, 肝脾未触及, 肝区无明显叩击痛, 移动性浊音阴性, 肠鸣音正常存在, 双

■同行评议者
虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科



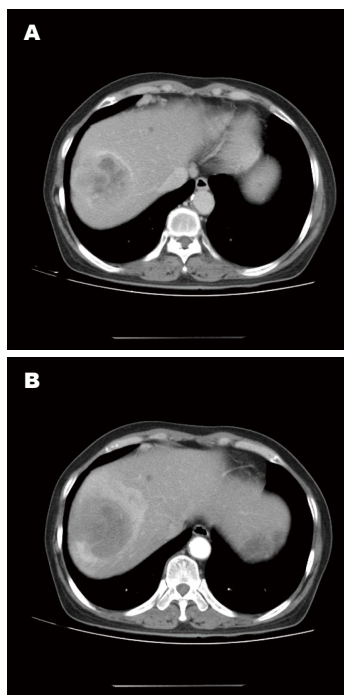


图1 影像学资料。A: 肝脏CT平扫; B: 肝脏增强扫描。肝右叶团块影似见厚壁, 增强后呈明显强化, 病变上部边界清晰, 后部边界模糊, 呈明显不均匀强化, 病变内可见斑片状低密度区, 增强后未见明显强化。

下肢无水肿。既往有高血压、糖尿病病史。实验室检查: 血常规WBC $10.8 \times 10^9/L$, NE% 77.2%, Hb 96 g/L, PLT $717 \times 10^9/L$; 肝功能ALT 126 U/L, AST 56 U/L, ALB 33.5 g/L; 血沉140 mm/L; CRP 196 mg/L; AFP 1.99 ng/mL; 乙肝五项及丙肝抗体均阴性; 影像学表现: 上腹部CT平扫+强化: (1)肝右叶团块状混杂密度影, 考虑肝脓肿可能性大, 建议密切结合临床资料及实验室检查并1 wk后复查; (2)肝内多发囊肿(图1)。诊断为肝脓肿, 给予抗感染及保肝治疗, 患者症状缓解, 无发热、腹痛等不适, 但复查CT肝脏病变较前无明显变化, 并进一步查MRI示: (1)肝右叶第VIII肝段病变, 符合肝脓肿改变; (2)肝内多发散在囊肿。多次复查血沉、CRP仍处于较高水平, 后拟行肝脓肿穿刺及肝组织活检术, B超引导下未见明显的液化, 未穿出脓液, 于病变中心穿出白色胶冻样物质送病理, 并于病变边缘取肝组织送病理检查。结果病理回报: 考虑两瓶组织均为肉瘤样肝细胞肝癌(图2)。免疫组织化学结果显示: 广CK(+++), Vim(+++), AFP(-), SmA(-), CD34(++血管), Ki67(30%)。患者拒绝进一步转科手术治疗出院, 8 mo时随访, 后患者行手术治疗, 大体所见: 肝组织9 cm×8 cm×4 cm, 切开几乎均为肿物, 切面灰白质脆, 膈肌受侵。术后患者一般情况可。目前健在。

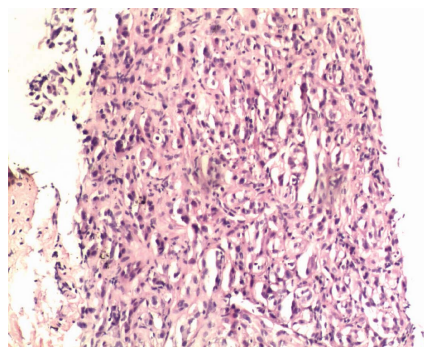


图2 肿瘤组织(H&E染色×200)。镜下肿瘤细胞由大量梭形细胞组成。

2 讨论

肉瘤样肝细胞癌(sarcomatoid hepatocellular carcinoma, SHC)是发生于肝脏的一种少见的恶性肿瘤, 恶性程度高, 预后较差, 1年生存率几乎为零^[1]。也有报道SHC较普通肝细胞癌体积大, 其预后尚不清楚^[2]。组织学上, SHC是由恶性上皮性成分和梭形细胞肉瘤样成分构成的。其本质是一种特殊类型的癌而非肉瘤或癌肉瘤, 其组织来源一直存有争议。国内偶有报道^[3], 对此病的认识尚不足。临床上, 肉瘤样肝细胞癌与普通肝细胞癌的发生率在年龄和性别的分布上没有差异, 腹痛和发热可能是最常见的症状, 血清AFP不高是他的一个特征^[4], 本例于此一致。患者的影像学表现极似肝脓肿, CT及MR平扫强化均提示符合肝脓肿的表现, 抗感染治疗后, 一般状况好转, 腹痛、发热消失, AFP正常, 被误诊为肝脓肿。但长疗程抗感染后复查CT无明显变化, 血沉、CRP炎症指标高居不下, 虽然AFP正常, CT表现不支持, 但根据临床经验血沉持续>100 mm/h, 多见于肿瘤、免疫系统疾病等, 随进一步行肝组织活检, 结果病理提示肉瘤样肝细胞癌。肉瘤样肝细胞癌具有肉瘤和肝细胞癌的双重特征^[5], 临床及CT表现均较普通型肝细胞癌相对不典型, 而近年来, 随着抗生素的应用、就诊时间的不同, 肝脓肿的临床及CT表现也多种多样^[6], 给诊断带来困难。通过此病例我们得出: (1)实际诊疗过程中不能过分依赖影像学结果; (2)临床医生应做到见微知著, 不应忽略任何有异常的化验结果, 例如本例患者血沉异常升高、轻度贫血等均提示肿瘤可能; (3)认真做好鉴别诊断工作, 病理为诊断的金标准, 必要时尽早进行组织活检。丰富临床经验及扎实基础知识是临床诊疗的基础, 结合患者的临床表现、辅助检查和临床思维、经验, 才能更好地诊断疾病, 避免误诊和延误病情。

■相关报道

国内可见散在的报道, 多集中于分析肉瘤样肝细胞癌的CT及病理表现, 提示肉瘤样肝细胞癌具有肉瘤和一般类型肝细胞癌的双重特征。

■创新盘点

本病例的临床及影像学表现等各方面极似肝脓肿, 是该病与肝脓肿鉴别的一个很好的实例, 并提醒广大医务工作者, 不能过分依赖影像学检查, 在鉴别诊断过程中血清学指标也不容忽视, 例如血沉在许多疾病中起重要作用等。

■同行评价

本文对临床医生提高对该病的认识有一定的价值.

3 参考文献

- 1 Seok JY, Kim YB. [Sarcomatoid hepatocellular carcinoma]. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 89-94 [PMID: 20375648 DOI: 10.3350/kjhep.2010.16.1.89]
- 2 Shin HP, Jeon JW, Park JJ, Cha JM, Joo KR, Lee JL, Kim GY, Kang SY. A case of leukemoid reaction in a patient with sarcomatous hepatocellular carcinoma. *Korean J Hepatol* 2011; 17: 226-228 [PMID: 22102390 DOI: 10.3350/kjhep.2011.17.3.226]

- 3 金光玉, 延光海, 赵志梅. 肉瘤样肝细胞癌1例. *中国临床医学影像杂志* 2009; 20: 955-956
- 4 Han JH, Park YN, Jung WH, Chi HS, Park C. A case with sarcomatoid hepatocellular carcinoma. *Yonsei Med J* 1998; 39: 390-394 [PMID: 9752807]
- 5 杨炼, 陈立波, 潘华雄, 韩萍. 原发性肉瘤样肝细胞癌的CT诊断. *临床放射学杂志* 2009; 28: 21
- 6 朱石柱, 黄丽雪, 吴俊峰, 赵瑞华. 非典型肝脓肿CT误诊原因分析. *疑难病杂志* 2012; 11: 59-61

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法. 定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种. 参加核心期刊评审的学科专家达8200多位. 经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录. 在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念 and 设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

度必光 教授
遵义医学院附属医院

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

王蔚虹 教授
北京大学第一医院

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

